

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**SÜT VE GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN  
PROBİYOTİK ÖZELLİKTEKİ *ENTEROCOCCUS*  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU, TANILANMASI VE İZMİR  
TULUM PEYNİRİ ÜRETİMİNDE DESTEK KÜLTÜR  
OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Oktay YERLİKAYA**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necati AKBULUT**

**Süt Teknolojisi Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu : 501.10.01**

**Sunuş Tarihi : 28.12.2012**

**Bornova-İZMİR**

**2012**



Oktay YERLİKAYA tarafından doktora tezi olarak sunulan “**Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden Probiyotik Özellikteki *Enterococcus* Türlerinin İzolasyonu, Tanınması ve İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Destek Kültür Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve .....tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	:	.....
<b>Raportör Üye</b>	:	.....
<b>Üye</b>	:	.....
<b>Üye</b>	:	.....
<b>Üye</b>	:	.....



**ÖZET****ÇİĞ SÜT VE GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN  
PROBİYOTİK ÖZELLİKTEKİ *ENTEROCOCCUS*  
TÜRLERİNİN İZOLASYONU, TANILANMASI VE İZMİR  
TULUM PEYNİRİ ÜRETİMİNDE DESTEK KÜLTÜR  
OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

YERLİKAYA, Oktay

Doktora Tezi, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necati AKBULUT

Aralık 2012, 184 sayfa

Bu çalışmada biyokimyasal ve fenotipik yöntemler ile çiğ süt ve geleneksel bazı süt ürünlerinden probiyotik özellikteki *Enterococcus* türleri izole edilmesi ve bu türlerin İzmir Tulum Peyniri Üretiminde destek kültür olarak kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla; İzmir ili ve çevresinden çiğ süt ve çeşitli süt ürünü örneği toplanmış ve Kanamycin Aesculin Azide Agar, Slanetz Bartley Medium, ve M-17 Agar besi yerlerine ekimleri gerçekleştirilerek izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. İzolatların gram boyama ve katalaz testi yapılmış ve testlerden sonra 167 izolat laktik asit bakterisi olarak tanımlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre 122 izolatın *E. faecium*, 18 izolatın *E. durans*, 17 izolatın *E. faecalis*, 8 izolatın *E. faecium* var., 2 izolatın ise *E. hirae* olduğu belirlenmiştir. Teknolojik ve probiyotik özellikleri belirlenen türler arasından vankomisin direnci ve dekarboksilasyon özelliği göstermeyen, yüksek antimikrobiyal aktiviteli ve asit dirençli 3 adet *E. faecium* ve 1 adet *E. durans* suşu seçilerek karışık bir kültür hazırlanmış, bu kültür peynir kültürü ile farklı oranlarda karıştırılarak İzmir Tulum Peyniri Üretiminde kullanılmıştır. 180 gün olgunlaştırılan peynirlerde depolama süresince fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikler önceki çalışmalar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde destek kültür kullanımının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklere olumsuz etki etmediği, kültürdeki probiyotik enterokok oranının

artışının duyuşal özelliklerini özellikle lezzet özelliklerini olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Enterokoklar, probiyotik özellik, laktik asit bakterileri, İzmir Tulum Peyniri, destek kültürler

**ABSTRACT****A RESEARCH ON ISOLATION AND IDENTIFICATION OF  
ENTEROCOCCUS SPECIES FROM RAW AND TRADITIONAL  
DAIRY PRODUCTS AND THEIR POTENTIAL USE IN İZMİR  
TULUM CHEESE AS ADJUNCT CULTURE**

YERLİKAYA, Oktay

PhD in Department of Dairy Technology

Supervisor: Prof. Dr. Necati AKBULUT

December 2012, 184 pages

In this study, *Enterococcus* species with probiotic properties were isolated from raw milk and some traditional dairy products by using biochemical and phenotypical methods and their potential use in İzmir Tulum cheese production as supporting culture were investigated. For these purposes, raw milk and some dairy product samples were collected in İzmir and neighbouring regions and samples were inoculated in Kanamycin Aesculin Azide Agar, Slanetz Bartley and M-17 Agar media and isolated. 167 lactic acid bacteria were identified after Gram staining and catalase tests. Due to the analysis, 122 of these isolates identified as *E. faecium*, 18 as *E. durans*, 17 as *E. faecalis*, 8 as *E. faecium* var. and 2 as *E. hirae*. Technological and probiotic properties of these species were determined. Among these, 3 *E. faecium* and 1 *E. durans* species with no vancomycin resistance, no decarboxylation activity, high antimicrobial activity and resistance to acidity were selected, and a mix culture were produced. This culture was mixed with cheese culture in different proportions and used in İzmir Tulum cheese production. Cheese samples left for maturation for 180 days, and their physical, chemical, microbiological and sensory properties were evaluated with comparison to prior studies. Evaluations showed that using supporting culture in İzmir Tulum cheese production have no negative influence on physical, chemical and microbiological properties and it has been understood that higher proportions of probiotic enterococci in the culture have a positive impact on the sensory properties, especially on flavour.

**Key words:** Enterococci, probiotic properties, lactic acid bacteria, İzmir Tulum Cheese, adjunct cultures.



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım bugüne kadar bana her türlü konuda yardımcı olan ve tez projemi tamamlamama büyük katkısı bulunan tez danışmanım Prof. Dr. Necati AKBULUT ve en zor anlarımda hiçbir yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Özer KINIK'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışma konumu belirlemede ilham kaynağı olan ve tezimin gerçekleşmesinde kullandığım yöntemleri öğrendiğim Prof. Dr. Sevda KILIÇ'a, araştırmam süresince yaptıkları olumlu yönlendirme ve desteklerinden ötürü Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR'e, tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı Zir. Yük. Müh. Artemis TORUNOĞLU ve Araş. Gör. Elif ÖZER'e, duyusal analizlerimin gerçekleştirilmesinde katkı sağlayan Doç. Dr. Harun KESENKAŞ, Araş. Gör. Dr. Nayil DİNKÇİ, Araş. Gör. Aslı AKPINAR ve Araş. Gör. Merve AÇU'ya en içten şekilde teşekkürü borç bilirim. Referans kültürlerimin teminini sağlayan Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL, Dr. James SWEZEY ve Dr. Aneta ŁUCZKIEWICZ'e, İzmir Tulum Peyniri Üretimini gerçekleştirmemde işletme olanaklarından sorunsuzca faydalandığım Şemsi Egi Gıda Ürün. Ltd. Şti. ve çalışanlarına, kültür teminini sağladığım Maysa Gıda San. ve Tic. A.Ş.'ne, projemizi maddi olarak destekleyen Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

Geldiğim noktada belki de en büyük katkı ve desteği bulunan sevgili anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TEŞEKKÜR .....	ix
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxiii
RESİMLER DİZİNİ .....	xxvii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xxix
1. GİRİŞ .....	1
1.1 Enterokokların Fonksiyonel Özellikleri ve Probiyotik Olarak Kullanımları .....	9
1.2 İzmir Tulum Peyniri .....	11
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	17
2.1 <i>Enterococcus</i> Türlerinin İzolasyonu, Tanılanması ve Probiyotik Özellikleri ile İlgili Çalışmalar .....	17
2.2 Peynir Teknolojisinde <i>Enterococcus</i> Türlerinin Kullanımı ve Kültür Kullanılarak	

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
Üretilen Tulum Peynirleri ile İlgili Çalışmalar.....	26
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.1 <i>Enterococcus</i> Türleri .....	31
3.1.2 İndikatör mikroorganizmalar .....	31
3.1.3 Çiğ süt.....	31
3.1.4 Peynir mayası.....	32
3.1.5 Starter kültür .....	31
3.1.6 Kaya tuzu ve salamura (NaCl).....	32
3.1.7 Ambalaj materyali .....	32
3.2 Yöntem .....	32
3.2.1 <i>Enterococcus</i> türlerinin izolasyonu .....	32
3.2.2 <i>Enterococcus</i> türlerinin fenotipik tanılanması.....	33
3.2.3 <i>Enterococcus</i> türlerinin bazı teknolojik ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi .....	36
3.2.3.1 <u>Asidifikasyon</u> .....	36

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
3.2.3.2 <u>Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi</u> .....	36
3.2.3.3 <u>Lipolitik aktivite</u> .....	36
3.2.3.4 <u>Vankomisin direnci</u> .....	36
3.2.3.5 <u>Antimikrobiyal aktivite</u> .....	37
3.2.3.6 <u>Proteolitik aktivite</u> .....	37
3.2.3.7 <u>Dekarboksilaz aktivitesi</u> .....	38
3.2.3.8 <u>Asit direnci</u> .....	38
3.2.4 İzmir Tulum Peyniri üretimi için uygun suşların seçimi .....	38
3.2.5 Probiyotik <i>Enterococcus</i> türleri kullanılarak üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin üretimi ve özelliklerinin belirlenmesi.....	39
3.2.5.1 <u>Starter kültürün hazırlanması</u> .....	39
3.2.5.2 <u>Starter kültür kompozisyon analizi</u> .....	39
3.2.5.3 Süte ilave edilecek peynir mayası miktarının hesaplanması .....	39
3.2.5.4 <u>Peynir üretimi</u> .....	40
3.2.5.5 <u>Örnek alma</u> .....	43
3.2.8 İzmir Tulum Peynirine işlenen çiğ ve ısıtılmış işlem uygulanan	

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
sütlerde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler .....	44
3.2.8.1 <u>Kurumadde</u> .....	44
3.2.8.2 <u>pH</u> .....	44
3.2.8.3 <u>Yağ</u> .....	44
3.2.8.4 <u>Titrasyon asitliği</u> .....	44
3.2.8.5 <u>Toplam azot (TN) ve protein</u> .....	44
3.2.8.10 <u>Mikrobiyolojik analizler</u> .....	44
3.2.9 Peyniraltı sularında yapılan analizler.....	44
3.2.10 İzmir Tulum Peynirlerinde fiziksel ve kimyasal analizler.....	45
3.2.10.1 <u>Kurumadde</u> .....	45
3.2.10.2 <u>Yağ ve kurumaddede yağ</u> .....	45
3.2.10.3 <u>Tuz ve kurumaddede tuz</u> .....	45
3.2.10.4 <u>pH Değeri</u> .....	45
3.2.10.5 <u>Titrasyon asitliği / % Laktik asit değeri</u> .....	45
3.2.10.6 <u>Toplam azot (TN) ve rotein</u> .....	45
3.2.10.7 <u>Suda çözünen azot (WSN)</u> .....	46

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
3.2.10.8 <u>Olgunlaşma indeksi</u> .....	47
3.2.10.9 <u>Serbest yağ asitleri değeri</u> .....	47
3.2.11 İzmir Tulum Peyniri örneklerinde mikrobiyolojik analizler .....	48
3.2.11.1 <u>Dilüsyon sıvılarının hazırlanması</u> .....	48
3.2.11.2 <u>Besi yerlerinin hazırlanması</u> .....	48
3.2.11.3 <u>Kültür bakterilerinin sayımı</u> .....	48
3.2.11.4 <u>Enterococcus ssp. sayımı</u> .....	49
3.2.11.5 <u>Maya-küf sayımı</u> .....	49
3.2.12 Randıman .....	49
3.2.13 Duyusal değerlendirme .....	49
3.2.14 İstatistiksel analiz metodları .....	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	51
4.1. Laktik Asit Bakterilerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Tanılama	
Sonuçları .....	51
4.2 Asidifikasyon Özellikleri .....	54
4.3 Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi .....	64

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
4.4 Lipolitik Aktivite .....	69
4.5 Vankomisin Direnci.....	75
4.6 Antimikrobiyal Aktivite.....	81
4.7 Dekarboksilasyon Testi .....	86
4.8 Proteolitik Aktivite .....	90
4.9 Asit Direnci.....	94
4.10 İzmir Tulum Peyniri Üretimi İçin Uygun <i>Enterococcus</i> Türlerinin Seçimi ve Kültür Kombinasyonlarının Hazırlanması.....	96
4.11 İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş Sütlerin Özellikleri.....	97
4.12 İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Elde Edilen Peyniraltı Sularının Özellikleri .....	99
4.13 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	99
4.13.1 Kurumadde .....	100
4.13.2 Yağ ve kurumaddede yağ .....	103
4.13.3 Tuz ve kurumaddede tuz.....	106



**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
4.13.4 pH Değeri.....	110
4.13.5 Titrasyon asitliği / % Laktik asit değeri.....	113
4.13.6 Toplam azot (TN) ve protein .....	115
4.13.7 Suda çözünen azot (WSN).....	117
4.13.8 Olgunlaşma indeksi .....	121
4.13.9 Serbest yağ asitleri değeri.....	122
4.14. İzmir Tulum Peyniri Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri .....	125
4.14.1 Kültür bakterileri .....	125
4.14.1.1 <u>Lactobacillus</u> türleri.....	125
4.14.1.2 <u>Lactococcus</u> türleri.....	128
4.14.1.3 <u>Enterococcus</u> türleri.....	130
4.14.1.4 <u>Maya-küf miktarı</u> .....	133
4.15 Peynir Randımanı .....	135
4.16 Duyusal Değerlendirme .....	136
4.16.1 Yüzey görünümü .....	136
4.16.2 Renk.....	138

**İÇİNDEKİLER (DEVAM)**

	<u>Sayfa</u>
4.16.3 Doku .....	139
4.16.4 Lezzet.....	141
4.16.5 Tüm izlenim.....	143
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	143
6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	145
7. ÖZGEÇMİŞ.....	182
EKLER.....	183
EK 1 Enterokokların izolasyon, fenotipik tanılama ve özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri ve çözeltiler .....	
EK 2 Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerlerinin bileşimleri.....	
EK 3 Enterokok türlerinin fenotipik tanılanmasında kullanılan özellikler.....	
EK 4 Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilen <i>Enterococcus</i> Türlerinin fenotipik özellikleri .....	
EK 5 İzmir Tulum Peynirlerinin kalite kriterleri ve derecelendirme .....	
EK 6 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin duyuşal puanlama tablosu .....	

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Enterokokların diğer gram pozitif ve katalaz negatif koklardan ayrımı.....	5
4.1 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % kurumadde içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	101
4.2 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	103
4.3 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % kurumaddede yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	105
4.4 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	107
4.5 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % kuru maddede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	109
4.6 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	111
4.7 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % laktik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	114
4.8 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % azot değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler .....	116
4.9 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % protein değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler .....	117

**ŞEKİLLER DİZİNİ (DEVAM)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.10 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin suda çözünen azot değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	120
4.11 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	122
4.12 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin serbest yağ asitleri değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	124
4.13 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Lactobacillus</i> ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler .....	127
4.14 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Lactococcus</i> ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler .....	129
4.15 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Enterococcus</i> ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	132
4.16 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin maya-küf sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	134
4.17 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yüzey görünümü puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler .....	137
4.18 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin renk puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	139

**ŞEKİLLER DİZİNİ (DEVAM)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.19 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin doku puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	140
4.20 İzmir Tulum Peyniri Örneklerinin lezzet puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan).....	142
4.21 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tüm izlenim puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan).....	144



**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Bazı enterokok türlerinin ayırt edici fenotipik özellikleri.....	3
1.2 Enterokoklar tarafından sentezlenen bakteriyosin (enterosin) türleri.....	10
1.3 Kuru ve salamuralı tulum peynirinin bileşimleri.....	12
4.1 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türlerinin izolat kodları ve izole edildiği kaynaklar.....	51
4.2 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları (pH olarak) .....	55
4.3 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları (% LA olarak).....	59
4.4 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretimi sonuçları.....	65
4.5 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları.....	70
4.6 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların vankomisin direnci sonuçları.....	76
4.7 İzole edilen <i>Enterococcus</i> türleri ile referans suşların antimikrobiyal aktiviteleri.....	82
4.8 İzole Edilen <i>Enterococcus</i> tür ve suşlarının lizin ve ornitin dekarboksilasyon testi sonuçları.....	87

## ÇİZELGELER DİZİNİ (DEVAM)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.9 İzole edilen <i>Enterococcus</i> tür ve suşlarının proteolitik aktivite sonuçları...	89
4.10 İzole edilen <i>Enterococcus</i> tür ve suşlarının asit direnci (pH: 2, 2.5 ve 3) testi sonuçları.....	94
4.11 İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan kültürlerin <i>Lactococcus</i> ssp. ve <i>Enterococcus</i> ssp. içerikleri.....	97
4.12 İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan çiğ ve ısıtılmış işlem görmüş sütlerin fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri.....	98
4.13. İzmir Tulum Peyniri üretiminde elde edilen peyniraltı sularının özellikleri.....	99
4.14. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumadde içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	100
4.15 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	103
4.16 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % kurumaddede yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	105
4.17. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tuz içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	107
4.18 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % kurumaddede tuz içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	109



**ÇİZELGELER DİZİNİ (DEVAM)**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.19. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin pH değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	111
4.20. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % laktik asit değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	114
4.21. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	115
4.22. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin protein değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	117
4.23. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin suda çözünen azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	119
4.24. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	121
4.25. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin serbest yağ asitleri değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	124
4.26. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Lactobacillus</i> ssp. sayımları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	126
4.27. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Lactococcus</i> ssp. sayımları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	129
4.28. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin <i>Enterococcus</i> ssp. sayımları ve	

**ÇİZELGELER DİZİNİ (DEVAM)**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
depolama Süresince meydana gelen değişiklikler.....	131
4.29. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin maya-küf sayımları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	134
4.30. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin randımanları.....	135
4.31. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yüzey görünümü puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	136
4.32. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin renk puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	138
4.33. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin doku puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	140
4.34. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin lezzet puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	141
4.35. İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tüm izlenim puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler.....	143

**RESİMLER DİZİNİ**

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Çiğ sütün çift cidarlı ısıtıcılarda pastörizasyonu.....	39
3.2 Starter kültür ve peynir mayası ekleme.....	40
3.3 Telemenin işlenmesi.....	40
3.4 Telemenin baskıya alınması.....	40
3.5 Protein tayin cihazı (Leco FP 528).....	45
4.1 Fenol Red Broth'ta şeker fermentasyon testlerinin değerlendirilmesi.....	52
4.2 <i>Streptococcus</i> Broth'ta şeker fermentasyon testlerinin değerlendirilmesi.	53
4.3 <i>Enterococcus</i> türlerine ait antimirobiyal aktivite görüntüleri ve inhibisyon zonları.....	82
4.4 <i>Enterococcus</i> türlerinin Moeller Decarboxylase Broth'ta verdiği reaksiyonlar.....	87



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	santigrat (celsius)
ml	mililitre
L	litre
Kg	kilogram
g	gram
mg	miligram
µg	mikrogram
Mm	milimetre
Nm	nanometre
Kob	koloni oluşturan birim
Log	logaritma



## 1. GİRİŞ

Peynir, sütün peynir mayası veya zararsız organik asitlerin etkisiyle pıhtılaştırılması, değişik şekillerde işlenmesi ve bu arada süzülmesi, şekillendirilmesi, tuzlanması, bazen tat ve koku verici zararsız maddeler katılması ve çeşitli süre ve derecelerde olgunlaştırılması sonucunda elde edilen besin değeri yüksek bir sütün ürünüdür (Yetişmeyen, 1995).

2011 verilerine göre dünyada üretilen sütün miktarı 730 milyon ton olup, bu üretimin % 37'si olan 269 milyon tonu Asya Kıtasında, % 30'u olan 216 milyon ton Avrupa Kıtası'nda, % 13'üne karşılık gelen 97 milyon tonu ise Kuzey Amerika'da üretilmektedir (Anonim, 2011). Türk İstatistik Kurumu'nun 2012 yılının ilk 8 aylık verilerine göre Türkiye'de toplam 5.554.442 ton civarında toplam çiğ inek sütün, 853.583 ton içme sütün, 715.572 ton yoğurt, 392.639 peynir, 335.338 ton ayran üretimi gerçekteşmiştir (Anonim, 2012).

Kullanılan sütün çeşidinden ve üretim metotlarındaki farklılıklardan dolayı günümüzde yüzlerce değişik peynir çeşidi bulunmaktadır. Bazı kaynaklarda 1000'den fazla, bazılarında ise 4000'e yakın değişik isimle bilinen 400 çeşit peynirin üretildiği bildirilmektedir (Konar, 1998; Kılıç ve ark., 2002). Bu durum peynirin hemen her yerde, her ülkede sevilerek tüketildiğinin bir kanıtıdır. Özellikle olgunlaşma döneminde sütün bileşimine giren büyük moleküllerin biyokimyasal olarak değişime uğraması sonucunda sindirimi kolaylaştırır, biyoyararlılığı da artar (Kılıç ve ark., 2002; Kılıç ve Vapur, 2003).

Türkiye'de üretilen peynir çeşitleri arasında önemli bir yeri olan tulum peyniri, yapım tekniği ve görünümü itibariyle birbirinden oldukça farklılık gösteren kuru ve salamuralı olmak üzere iki tipte yapılmaktadır. Tulum peyniri ismini ambalajlanmasında ve olgunlaştırılmasında kullanılan tulumlardan almaktadır. Tulum olarak genellikle daha dayanıklı olduğu için keçi derisi tercih edilmekle birlikte koyun derisi de kullanılmaktadır. Tulumun genellikle iç kısmına peynir doldurulduğu halde, özellikle Ege Bölgesi'nde yaygın olarak, derinin kılları traş edildikten sonra dış kısmı içe gelecek şekilde de kullanıldığı bilinmektedir (Sert ve Akın, 2008).

Ege bölgesinde üretilen salamuralı Tulum peyniri veya diğer adıyla İzmir Tulum peyniri, üretim ve özellikleri açısından diğer peynirlerden farklılık göstermektedir. Peynirlerin olgunlaştırılmasında kullanılan tulumun pahalı olması ve salamuranın muhafaza edilebilmesi amacıyla Ege bölgesinde içi laklı tenekelerin kullanıldığı bildirilmektedir (Tarakçı vd. 2005, Sert ve Akın, 2008).

Genellikle çiğ yada düşük sıcaklıkta ısıtılan süttten üretilen tulum peynirlerinin doğal mikrobiyal florasının çeşitliliği nedeniyle, pastörize süttten üretilen peynirlere göre eşsiz bir tat ve aromaya sahip olduğu düşünülmektedir. Tulum ve İzmir Tulum Peyniri'nin doğal florasında bulunan enterokoklar çevre, gıda ve klinik mikrobiyoloji açısından önem taşıyan laktik asit bakterileridir. Doğal ortamlarının insan ve değişik çiftlik hayvanlarının intestinal sistemleri olması nedeniyle başta gıda ve yemler olmak üzere her yerde bulunabilmektedirler. Gelişme şartları ve katalaz aktivitesi gibi pek çok özellikleri diğer laktik asit bakterilerine benzemektedir. Pek çok laktik asit bakterisi gibi bazı enterokok türleri starter kültür, koruyucu kültür, hatta probiyotik özellikleri nedeniyle gıda ve yem katkıları olarak da kullanılabilir (Klein, 2003; Foulquié Moreno et al., 2006).

Diğer laktik asit bakterilerinin aksine enterokoklar, GRAS (Generally recognized as safe = genellikle güvenli kabul edilen) statüsünde değildir ve suda bulunmaları fekal kontaminasyonun bir indikatörü olarak kabul edilmektedir. Ancak enterokoklar fonksiyonel özelliklerinden yani asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizması, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin üretimi gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıda endüstrisinde önemli yer tutan laktik asit bakterilerinden birisidir (İşleroğlu vd., 2008). Bununla beraber Laktik Asit Bakterileri Endüstriyel Platformu Uluslar arası Toplantısı'nda sadece probiyotik özellikleri belirlenmiş olan suşların gıda katkısı olarak kullanımları önerilmiştir (Gürsoy ve Kınık, 2006b).

Enterokoklar tekli, ikili veya kısa zincirler halinde bulunan gram pozitif koklardır. Son zamanlara kadar streptokok cinsi içinde sınıflandırılmışlardır. *Streptococcus faecalis* 1906 yılında Andrewes ve Horder tarafından, *Streptococcus faecium* ise 1919 yılında Orla-Jensen tarafından tanılanmıştır.



Schleifer ve Kilpper-Balz tarafından 1984'te yapılan moleküler çalışmalar sonucunda *S. faecalis* ve *S. faecium*' un streptokoklardan ayrılarak *Enterococcus* cinsine aktarılması önerilmiştir. Daha sonra bu genus içindeki bakteriler *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* gibi çeşitli türlere ayrılmışlardır (Facklam and Teixeira, 1998; Koneman et al., 2005).

Çizelge 1.1 Bazı enterokok türlerinin ayırt edici fenotipik özellikleri (Ulusoy vd. 2004)

Test	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.hirae</i>	<i>E.durans</i>	<i>E.gallinarum</i>
L- arabinoz	-	+	-	-	+
Mannitol	+	+	-	-	+
Sorbitol	+	D	-	-	+
Raffinoz	-	D	D	-	+
Sükroz	+	+	+	-	+
Sorboz	-	-	-	-	-
Hareket	-	-	-	-	+
Pigment	-	-	-	-	-
% 6.5 NaCL	+	+	+	+	+
PYR	+	+	+	+	+
+: pozitif, -: negatif, D: değişken					

Bazı kaynaklarda *Enterococcus durans* ile *Enterococcus faecium*'un aynı tür olduğu bildirilmektedirler (Yaygın ve Kılıç, 1993; Kılıç, 2001). Devriese and Pot (1995) *E. durans*'ı *E. faecium*, *E. durans*, *E. Hirae* ve *E. mundtii*'den oluşan *Enterococcus faecium* türleri grubu içinde vermişlerdir. Son yıllarda yapılan identifikasyon çalışmalarında ise *Enterococcus durans* ve *Enterococcus faecium*'dan ayrı iki tür olarak bahsedilmektedir (López-Díaz et al., 2000; Bulut vd., 2005; Cheriguene et al., 2007; Güley, 2008'den alıntıdır).

Enterekoklar mannitol, sorbitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidroliz etmelerine göre beş gruba ayrılırlar.

### **Grup 1**

*E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium* ve *E. saccharolyticus*'dan oluşur. Bu türlerin hepsi karbonhidratlı her üç sıvı besiyerinde asit oluşturur, fakat arginini hidrolize etmezler.

### **Grup 2**

*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii* ve *E. gallinarum*'dan oluşur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize ederler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişik reaksiyon verirler.

### **Grup 3**

*E. durans*, *E. hirae*, *E. dispar* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu grup üyeleri mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar, fakat arginini hidrolize ederler.

### **Grup 4**

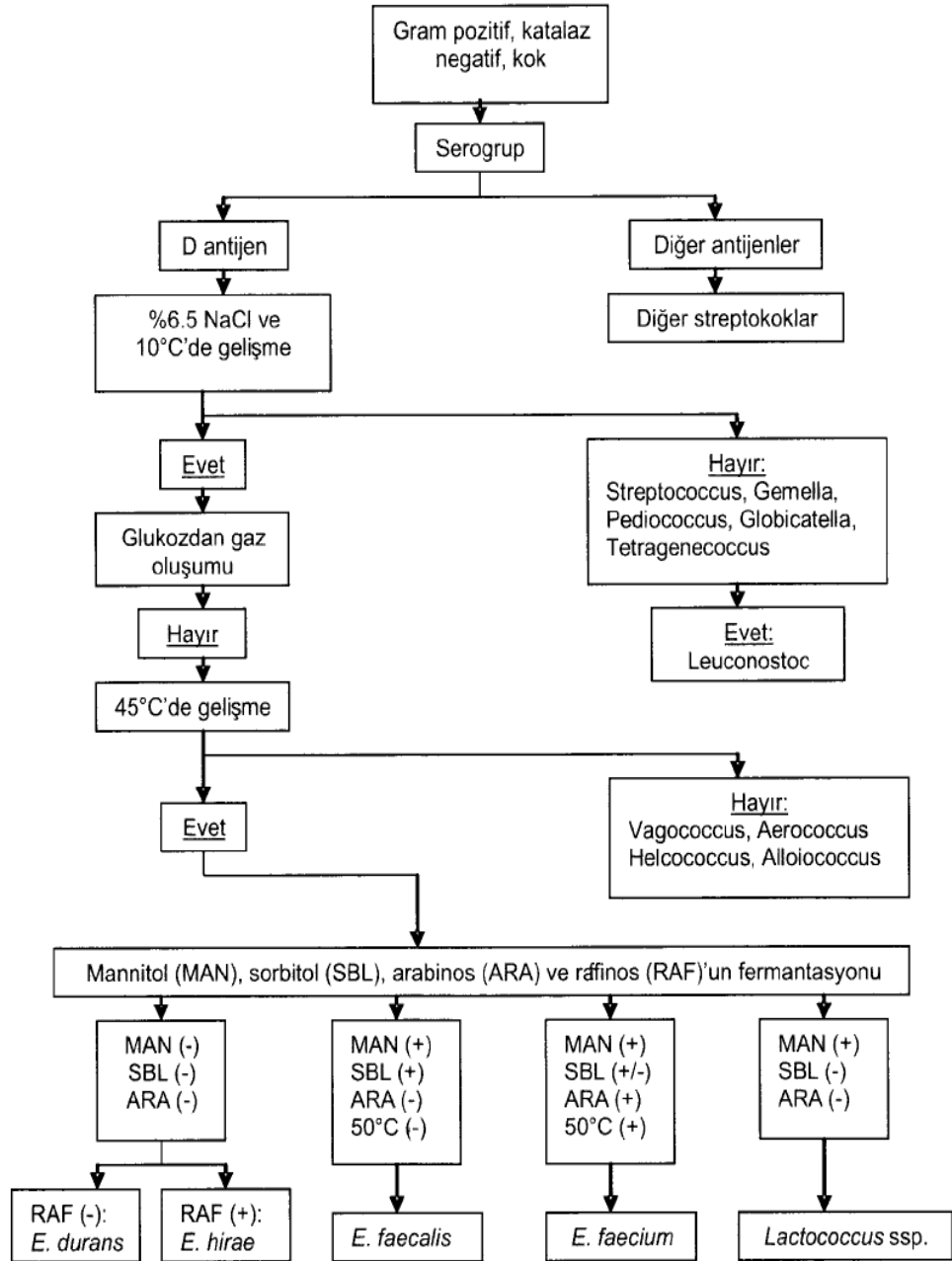
*E. sulfureus* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Her iki Enterekok türü mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken *E. sulfureus* asit oluşturmaz.

### **Grup 5**

*E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ve *E. faecalis*'in arginini hidrolize etmeyen varyantları ile *E. columbae* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişik reaksiyon verirler.

Morfolojik olarak streptokoklardan ayrımı zordur. Fakültatif anaerob olup optimum üreme sıcaklığı 35°C dir. Bunun yanında 10-45°C arasında üreyebilme

özelliği gösterebilen türler bulunmaktadır. % 6.5 NaCl içeren ortamlarda üremeyi sürdürebilen, 60°C'de 30 dakika canlı kalabilen ve eskülünü hidrolize edebilen bakterilerdir (Facklam et al., 1999; Teixeira and Facklam, 2003). Ayrıca pH 9.6'da, %40 safra tuzu içeren besiyerinde üreyebilirler. *E. faecalis*'in safra tuzları ile deterjanların letal düzeylerine adapte olmalarından dolayı uygun olmayan dezenfeksiyon rejimlerinde canlılıklarını sürdürebilmeleri mümkündür.



Şekil 1.1 Enterokokların diğer gram pozitif ve katalaz negatif koklardan ayrımı (Klein, 2003).

Enterokokların bazı türleri hareketlidir (Bilgehan, 2002). Sitokrom enzimleri olmadığından katalaz negatifler. Fakat bazı suşları örneğin *E. faecalis* pseudokatalaz üretebilir ve katalaz testinde zayıfta olsa pozitiflik görülebilir (Ruoff et al., 1990).

Enterokokların probiyotik olarak kullanılmaları halen tartışılmakta olan bir konudur. Bazı suşların probiyotik yararları iyi bir şekilde belirlenirken, enterokokların insanlarda yol açtığı hastalıklar ve pek çok antibiyotiğe direnç göstermeleri nedeniyle kullanımları da sınırlı olmaktadır (Franz et al., 2003).

Süt ürünlerinde ve diğer gıdalarda da yüksek oranlarda bulunabilen bu bakterilerin, bakteriyosin üretimi, probiyotik karakteri, süt endüstrisinde kullanılabilirlikleri gibi önemli biyoteknolojik özellikleri olduğu halde, enterokokların gıda kaynaklı patojenler olarak görülüp görülmeyeceği üzerinde fikir birliği bulunmamaktadır. Ancak son yayınlarda yapılan araştırmalarda *E. faecalis* 'in ve diğer laktik asit bakterilerinden bazı türlerinin klinik enfeksiyonlara, özellikle de kalp iç zarı enfeksiyonunun oluşumuna neden olabildikleri belirtilmektedir. *E. faecalis* 'in insan ve hayvan dışkı dışında bitkilerde de yaygın olarak bulunması bu bakterilerin sanitasyon indikatörü olarak değerlendirilmesini büyük ölçüde azaltmaktadır (Kaleli ve Durlu-Özkaya, 2000).

Probiyotiklerin *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve irritable bağırsak sendromunun (IBS) tedavisi, cerrahi operasyonlar sonrası komplikasyonların azaltılması, antibiyotiğe bağlı ve *Clostridium difficile*'in neden olduğu ishallerin tedavisi gibi pek çok yararlı etkileri bulunmaktadır (Yaşar ve Kurdaş, 2009). Bilimsel veriler, probiyotiklerin hem sistemik bağışıklığı hem de intestinal mukozal bağışıklığı kuvvetlendirdiğini, spesifik bir bakteri grubuna etkileri ise, sistemik veya mukozal bağışıklığın uyarılması veya sindirim sistemini metabolize edici etkileriyle oluşturdukları direkt antagonistik etkilerine bağlanmaktadır. Probiyotiklerin sindirim sistemindeki diğer bakterilerle ve mukoz tabakayla yaptığı etkileşimlerin mekanizması tam bilinmemesine rağmen gıda allerjenleri ve bağırsak iltihaplanmaları gibi bir çok klinik çalışmada kullanımları başarılı olmuştur (Çakmakçı ve Turgut, 2008).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar insan gastrointestinal sistemlerinden izole edilmekte ve bu türler arasında genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri yaygın olduğu bilinmektedir. Bununla beraber enterokokların da aralarında bulunduğu *E. faecium*, *E. faecalis*, *S. salivarius ssp. thermophilus*, *Lc. lactis subsp. lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Pediococcus acidilactici*, *Sporolactobacillus inulinus*, *E. coli*, *Bacillus cereus* gibi diğer laktik asit bakteri türleri ve *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces boulardii* gibi mayalar da probiyotik olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinin farklı suşları insanlarda probiyotik katkı olarak yararlanılmasının yanında, *E. faecalis* veterinerlik gıda katkısı olarak geniş ölçüde kullanım alanı bulunmaktadır. 2004 Şubat'tan beri Avrupa Birliği'nde 10 ilacın hazırlamasında 9 farklı *E. faecium* suşu'nun yem hammaddelerine ilavesine izin verilmiştir (Foulquié Moreno et al., 2006).

Süt ürünlerinin üretimi ve işlenmesi süresince hijyenik olmayan şartlar, enterokokların bu ürünlerde kolaylıkla bulaşıp gelişmesine neden olmaktadır. Enterokoklar süte süt işleme ekipmanları ve çiğ süt depolama tanklarına insan ve hayvan dışkılarından direkt olarak, kontamine sulardan ise indirekt olarak bulaşabilmektedir. Psikrotrofik doğaları nedeniyle düşük ve yüksek sıcaklık derecelerine direnç göstermekte, farklı substrat ve gelişme şartlarına adaptasyon sağlamaktadırlar. Sütün soğutulması süresince miktarında artış olabilmekte ve sütün pastörizasyondan sonra canlı kalabilmektedirler. Bu sebepten dolayı hem çiğ süt hem de pastörize sütlerin mikrobiyal ekolojilerinin bir parçasıdır. Dolayısı ile sütte farklı enterokok türleri bulunmakla birlikte *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* en yaygın bulunan türler olarak sıralanabilmektedir.

Enterokoklar Fontina, Mozzarella, Venaco ve Cebreiro gibi farklı Avrupada üretilen peynirlerin üretiminde kullanılan laktik starter kültürlerinin bileşiminde yer almaktadır (Hajikhani et al., 2007). Bu peynirlerin üretiminde mevcut starter kültürlerinin yanında patojen enterokok suşlarının da kullanılmasına yönelik çalışmalar mevcut olup enterokokların starter kültür olarak kullanıldıklarında, gerek duyuşal gerekse olgunlaşma süresi bakımından olumlu sonuçlar alındığı belirtilmektedir. Ancak starter kültür olarak kullanılacak enterokok türlerinin

belirlenmesinde, suşun apatojen olması yanında, antibiyotiklere dirençliliğinin olmaması gerekliliği vurgulanmaktadır (Göncüoğlu vd., 2009). Peynirlerde olgunlaşma süresince enterokokların bulaşması ve canlılıklarının devamı geniş bir gelişme sıcaklık aralığında gelişme gösterebilmelerine (10 - 45 °C), yüksek sıcaklıklara, asitliğe ( pH: 4,0 – 9,6) ve tuza (% 6,5 NaCl ‘u tolere eder ) dayanıklı olmalarına bağlanmaktadır (Giraffa, 2003).

Enterokoklar, başta Akdeniz havzasında üretilen çeşitli peynirlerin yapımında kullanılan starter kültürlerde bulunabilmektedir. Genellikle mezofilik laktik asit bakterileri ile karışım halinde bulunan doğal süt mikroflorasında enterokok türleri bulunmaktadır (Franz et al., 1999; Giraffa, 2003). *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* ürettiği asetaldehit, etanol, diasetil ve aseton gibi uçucu bileşikler ile peynirlerde aromanın gelişimine katkı sağlamaktadırlar (Erginkaya vd., 2007).

Enterokokların gıda, yem, çevresel ve klinik örneklerinden izolasyonu ve sayımı amacıyla çeşitli besiyerleri geliştirilmiştir. Brain Heart Infusion (BHI) broth/agar ya da Trypticase Soy (TS) broth/agar gibi zengin bileşimi olan besiyerlerinde enterokoklar kolayca ve çok miktarda üreyebilmektedir. Enterokoklar, MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) agar, Tryptone Glucose Extract agar, Tryptone Soy Yeast Extract agar, Plate Count agar, Rogosa agar, M17 agar, Elliker broth ve Todd-Hewit broth besiyerlerinde de kolaylıkla gelişebilmektedir. Kanamycin Esculin Azide (KAA) agar, *Enterococcus* Selective agar (SB, Slanetz and Bartley), KF *Streptococcus* agar, Citrate Azide Tween Carbonate (CATC) agar gıdalardan enterokokların izolasyon ve sayımında sıklıkla kullanılan seçici besiyerlerinden bazılarıdır. İnkübasyon sıcaklık (42-44 °C) ve sürelerinde (18-48 saat) oluşturulan farklılıklar da rekabetçi floranın üremesini baskılayarak besiyerlerinin seçiciliği üzerinde etkili olabilmektedir. Sodyum azid bu besiyerlerinde en yaygın kullanılan seçicilik ajanıdır. Bunun yanında farklı safra bileşikleri, talyum asetat, potasyum tellurit, potasyum tiyosiyanat, etil viyole, kristal viyole ve 2,3,5-trifenil tetrazolyum klorür (TTC) gibi renk maddeleri ve redoks indikatörleri ile kanamisin, gentamisin, nalidiksik asit, oksolinik asit, polimiksin ve kolitsin gibi antibiyotikler de seçicilik ajanları olarak kullanılmakta

ayrıca Tween 80, karbonat, sitrat gibi yardımcı maddeler de besiyerlerinin bileşiminde yer alabilmektedir (Toğay ve Temiz, 2011).

### **1.1 Enterokokların Fonksiyonel Özellikleri ve Probiyotik Olarak Kullanımları**

Günlük diyet ile gıda formunda tüketilen, sentetik bileşen içermeyen, besleyici etkisinin yanında, değişik etkenlerle hastalık oluşma riskini azaltıcı, sağlığı ve iyi hali geliştirici özelliklere sahip gıdalar, fonksiyonel gıdalar olarak tanılanmaktadır (Erbaş, 2006). Fonksiyonel gıda bileşenlerinden olan probiyotikler, besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik bağışıklığı düzenleyen, bağırsaklarda besinsel, mikrobiyal dengeyi sağlayan ve sağlığı olumlu etkileyen canlı mikroorganizmalar olarak tanılanabilmektedir. Bu gıdalar tüketildikten sonra sağlığı iyileştiren, beslenme fizyolojisinin ana sistemleri üzerine etkili, canlı, belirli mikroorganizmaları içermektedir. Günümüzde tükettiğimiz geleneksel fermente süt ürünleri de probiyotik mikroorganizmaları içerebilmektedir (Gültekin, 2004; Hill and Guaner, 2004).

Enterokoklar, olumlu yönleri nedeniyle geleneksel fermente gıdaların ve probiyotik ilaçların hazırlanmasında kullanılmaktadırlar. Enterokokların tıropatik etkilerinin olması onların gastrointestinal sistemin doğal üyeleri olmasına ve probiyotik özellikler gösterebilmelerine bağlı olmaktadır. Gastrointestinal rahatsızlıkların indirgenmesi, laktoz intolerans etkilerinin azaltılması, serum kolesterol seviyelerinin düşürülmesi, antikarsinojenik aktivite, gıdaların besin değerlerinin artırılması gibi pek çok yararlı etkileri bulunmaktadır (Bhardwaj et al., 2008).

Enterokokların gıdalara katkısı yalnızca birincil ve ikincil metabolizmalar nedeniyle son tat gelişiminin sınırlı olması değil, enterosin olarak da bilinen ve gıda biyokoruyucu olan bakteriyosinlerin üretimine de bağlanmaktadır (Bhardwaj et al., 2008). Çeşitli kaynaklardan derlenerek hazırlanan Çizelge 1.2.'de çeşitli enterokok tür ve suşları tarafından sentezlenen bakteriyosin türleri verilmiştir.

Çizelge 1.2 Enterokoklar tarafından sentezlenen bakteriyosin (enterosin) türleri

Üretici enterokok tür ve suşu	Oluşturduğu bakteriyosin	Kaynak
<i>E. faecium</i> WHE 81	Enterocin A ve B	Izquierdo et al., 2009
<i>E. faecium</i> F58	Enterocin L50A ve L50B	Achemchem et al., 2006
<i>E. faecium</i> CCM4231	Enterocin CCM4231	Callewaert et al., 2000
<i>E. faecium</i> RZS C13	Enterocin 13	Callewaert et al., 2000
<i>E. faecium</i> CTC492	Enterocin 416K1	Aymerich et al., 2000
<i>E. faecium</i> CTC492	Enterocin A ve B	Aymerich et al., 1996; 2002
<i>E. faecalis</i> A-48-32	Enterocin AS-48	Casaus, 1998; Muñoz et al., 2007
<i>E. casseliflavus</i> IM416K1	Enterocin 416K1	Sabia et al., 2003
<i>E. faecalis</i>	Cytolysin Cy1L1 ve Cy1L2	Gilmore et al., 1994
<i>E. faecalis</i> YI17	Bacteriocin 31	Tomita et al., 1996
<i>E. faecium</i> P13	Enterocin P	Cintas et al., 1997
<i>E. faecium</i> T136	Enterocin B	Casaus et al., 1997
<i>E. faecium</i> L50	Enterocin L50	Cintas et al., 1998
<i>E. faecium</i> L50	Enterocin Q	Cintas et al., 1998

Enterokok'lar probiyotik olarak insanlarda ve hayvanlarda bağırsak florasında mikrobiyel dengenin sağlanmasında, bazı süt ürünlerinin üretiminde probiyotik kültür olarak, insanların klinik tedavisinde kullanılan eczacılık ürünlerinin ve hayvanlarda enterik hastalıkları önlemek amacıyla yararlanılan preparatların hazırlanmasında da kullanılmaktadırlar. *Enterococcus* cinsi içinde probiyotik özellik gösteren iki tür *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* olarak bildirilmiştir. *Enterococcus faecium*'un insanlarda diyarenin tedavisinde



probiyotik olarak kullanımının, antibiyotik uygulamalarına bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. *Enterococcus faecium*'un insanlarda probiyotik etkisi ise kolesterolün sindirim sisteminden kana emiliminin azaltılması şeklinde ortaya çıkmaktadır (Erginkaya vd., 2007).

İsviçre'de üretilen ve probiyotik olarak kullanılan *E. faecium* SF 68 suşu üzerine yapılan çalışmalar sonucu, bu suşun antibiyotiğe bağlı diyarelerden korunmada ve çocuklarda görülen diyarelerin tedavisinde etkili olduğu ileri sürülmüştür. Belçika'da bulunan iki hastanede *E. faecium* SF 68'in yetişkinlerde akut diyareye etkileri de incelenmiştir. Bu tip diyarede (self-limited) kısa sürede iyileşme (6 günde %95'ten fazla düzelme) olmasına rağmen, enterokok kullanımı diyare süresini 1 -3 gün kısaltmıştır. Danimarka'da *E. faecium* SF 68 içeren bir fermente süt ürünü, hipokolesterolemik etkisi nedeniyle bireylere birkaç yıldır satılmaktadır. Bununla beraber, aynı suş ile yapılan 2 uzun süreli çalışmada (her biri 12 hafta ve 6 ay) kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, tüketicilerin tedavi süresi sonunda kolesterol seviyelerinde herhangi bir azalma görülmemiştir (Foulquié Moreno et al., 2006).

## 1.2 İzmir Tulum Peyniri

Tulum peyniri; ham peynirin (teleme) ufalanıp, tuzlandıktan sonra keçi derisinden yapılan tulumlara basılması ve belli süre olgunlaşması sonucu elde edilen peynir olarak tanılanmakta, duyuşal ve kimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan bir tanımda ise beyaz ve krem renkte, kuru madde ve yağ oranı yüksek, kolay dağılmayan (plastik özelliğe), ağza alındığında eriyerek kendine has tereyağı aroması kolaylıkla hissedilen, yarı sert, homojen tekstürde ve belirgin asidik tat da olan bir peynir çeşidi olarak belirtilmektedir (Kurt vd., 1991; Tekinşen ve Uçar, 2007).

Eskiden, kaşar peynirinin yapılmadığı, Beyaz Peynir üretimin zor olduğu, ulaşımının sağlıklı ve kolay olmadığı bölgelerde yağ üretiminden artan yağsız sütün değerlendirilmesi Tulum peyniri şeklinde olmaktadır. Günümüzde büyük şehirlerin bu peynir türüne ilgi duymasıyla sanayi ürünü olarak yapımına başlanmıştır. Ülkemizde tulum peyniri Trakya bölgesi dışında hemen her yerde

yapılmaktadır. Bu peynirin yapımında her çeşit sütte yararlanmak mümkündür (Demirci ve Şimşek, 1997).

Tulum peyniri, ismini ambalaj malzemesinden (tulumdan) almış olmasına rağmen, bugün piyasada satışa sunulan tulum peynirlerinin büyük bir çoğunluğu plastik bidonlar içerisinde yer almaktadır. Tulumda muhafaza, eskiden teneke ve diğer ambalaj malzemeleri bulunmadığı için tercih edilmiştir (Dağdemir, 2000). Türk Gıda Kodeksi'nde peynir ile ilgili bir tebliğ bulunmamaktadır. TS 11966 İzmir Tulum Peyniri (salamuralı tulum peyniri) Standardında, inek, koyun, manda ve keçi çığ sütlerinin veya bunların karışımlarının pastörize edilmesinden sonra tekniğine uygun olarak işlenmesi, işlem esnasında katkı maddelerinin ilave edilmesi ve olgunlaştırılması sonucu elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 1996).

Tulum peyniri üretiminde süt pıhtılaştırılır, baskılanan pıhtı yeterli suyunu verdikten sonra baskıdan alınır, nohut büyüklüğünde parçalanır ve % 4-5 oranında tuz ile tuzlanır. Peynirin tuzla iyice karışması sağlanır ve üstü ince bir bezle örtülerek serin bir yerde bekletilir. Her gün belirli zaman aralıklarında karıştırılan peynir fazla suyunu salar. Peynir pıhtısı bir sopa ile tulumlara sıkı ve hava kalmayacak şekilde basılır. Tulumun ağız kısmına biraz fazla tuz serpilir, boşluk kalmayacak şekilde tulum dikilir ve peynirler mahzen gibi serin yerlerde olgunlaşmaya bırakılır (Tarakçı vd., 2005). Kuru ve salamuralı Tulum Peynir'inin bileşimi Çizelge 1.3.'de verilmiştir.

Çizelge 1.3 Kuru ve salamuralı tulum peynirinin bileşimleri (Tekinşen, 2000).

Bileşen	Miktar (%)	
	Kuru	Salamuralı
Rutubet	37.9	42.9
Yağ	28.7	28.7
Protein	26.1	21.2
Tuz	5.2	5.8
Saf Kül	2.1	1.4

Tulum peynirinde randıman; kullanılan sütün bileşimine ve çeşidine bağlı bulunmaktadır. Genellikle yağlı süt kullanıldığı zaman randıman % 13-14.5, yavan süt kullanıldığında da % 9 kadardır (Demirci ve Şimşek, 1997).

Günümüz piyasasında standart ve kaliteli tulum peyniri üretilebildiği gibi yapım teknikleri ve bölgesel farklılıklar nedeniyle standart kalitede peynir üretimi zor olabilmektedir. Bu durumun başlıca sebeplerini şu şekilde sıralamak mümkündür;

- Yapım tekniğinin ilden ile hatta işletmeden işletmeye önemli farklılıklar göstermesi ve buna bağlı olarak da, farklı tat, lezzet ve renkte, elastik yapıdan uzak, “lor peyniri” gibi dağılan peynir üretilmesi,
- Peynir üretiminde kullanılan mayanın çeşit, miktar, mikrobiyal yük ve kuvvetçe birbirinden farklı olması,
- Pastörize, standart ve temiz süt kullanılmayışı,
- Olgunlaştırma koşullarının farklılık göstermesi,
- Piyasaya sunulan ürünün bazen büyük ambalajlarda bulunması nedeniyle perakende satış yerinde uzun süre ve uygun olmayan koşullarda kalması (Ateş, 1999).

İzmir Tulum peyniri üretiminde genellikle inek, koyun, keçi, bazı yerlerde de az miktarda manda sütü kullanılmaktadır. Genellikle süte pastörizasyon işlemi uygulanmamakta ve mayalama sıcaklığına ısıtılarak hemen mayalanmaktadır. Ancak, bazı işletmelerde süt yaklaşık 50°C'ye ısıtılıp, mayalama sıcaklığına soğutulduktan sonra mayalanmaktadır. Mayalama sıcaklığı ve süresi hava sıcaklığına ve ustanın bilgisine göre 27-37°C' ve 45-60 dakika arasında değişmektedir. Oluşan pıhtı “kıрма” adı verilen, ucunda ağaç çubuklar bulunan sopalarla nohut büyüklüğünde olacak şekilde parçalanmaktadır. Parçalanma işleminden sonra pıhtının dibe çökmesi için 15 dakika beklenmektedir. Bazı mandıralarda 40-50°C'deki sıcak su pıhtı üzerine dökülerek pıhtıya ısıtma işlemi uygulanabilmektedir. Kazan dibinde toplanan pıhtının altından cendere bezi geçirilerek toplanmaktadır. Daha sonra askı veya baskı yöntemi kullanılarak peynir suyunun daha kısa sürede uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Son zamanlarda

ise, cendere bezi üzerine ağırlık konularak uygulanan baskı yöntemi tercih edilmekte ve peynir suyunun daha kısa sürede uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Peynir kitlesi büyük kalıplar halinde kesilip ters yüz edilerek gözenek açması beklenmektedir. Göz açan peynir kalıpları, tenekenin genişliğine göre kesilmektedir. Tenekeye bir kalıp peynir konularak bir miktar tuz serpilmekte ve bu şekilde peynir kalıpları dizilmektedir. Peynir üzerine salamura ilave edilip tenekelerin ağızları kapatılmakta ve tenekedeki peynirler soğuk hava deposunda 4-6°C'de yaklaşık 90-180 gün olgunlaştırılmaktadır (Koca, 1996).

Salamura tulum peyniri üretim tarihinden itibaren en az 90 gün olgunlaşma süresini tamamladıktan sonra piyasaya sürülmelidir (Anonim, 1996). Bu şekilde üretilmiş olan İzmir Tulum Peyniri TSE Standardında; duyu özelliklerine göre; birinci ve ikinci sınıf, içermiş olduğu süt yağı miktarına göre; tam yağlı, yağlı, yarım yağlı, az yağlı (yavan) olmak üzere ayrılmaktadır.

Süt yağı miktarı, katı maddede, tam yağlı salamura peyniri için kütlece en az % 42, yağlı salamura peyniri için kütlece en az % 30, yarım yağlı salamura peyniri için kütlece en az % 20 ve az yağlı (yavan) salamura peyniri için kütlece en çok % 20 olmalıdır (Anonim, 1996).

Bazı kimyasal özellikleri bakımından ise; rutubet, kütlece en çok % 50, titrasyon asitliği laktik asit cinsinden en çok % 3 olmalı, ağır metallere kalay 250 ppm, kurşun 0.3 ppm ve civa 0.03 ppm'den fazla olmamalıdır (Anonim, 1996).

Tulum peyniri, geçmişte büyük çoğunlukta, günümüzde ise yalnızca sınırlı ölçüde hijyenik olmayan şartlarda çalışan geçici mandıralarda alışlagelen ilkel usullerle üretilmektedir. Peynir yapımında kullanılan sütler mayalama sıcaklığına kadar ısıtılıp mayalanmakta, dolayısıyla mikrobiyal açıdan güvenilir olmayan ürünler elde edilmektedir. Bu şekilde çiğ süttten elde edilen Tulum peynirleri ile hem tüketici sağlığı bakımından risk taşıyan, hem de kalitesi düşük ve standart olmayan ürünler ortaya çıkarmıştır (Bayar, 2008).

Bu sakıncaların giderilmesi için, önce kaliteli süt elde edilmesi ve süütün pastörize edildikten sonra üretimde kullanılması gerekmektedir. Hatta bazı ülkelerde peynire işlenecek sütlerin etkin ısı işleminden geçirilmesi yasalarla

zorunlu hale getirilmiştir. Ancak pastörizasyon işlemi, çiğ süt içindeki yapılacak ürünün istenilen lezzet ve aromada olmasını sağlayan ve bulunması arzu edilen mikroorganizmalardan çoğunun yıkımına neden olmaktadır (Tunail ve Köşker, 1986; Bayar, 2008).

Peynirlerin kendine özgü tat, koku ve yapısı; üretiminde kullanılan sütün cinsi, uygulanan teknoloji gibi faktörlerin yanı sıra, starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalara da bağlı olmaktadır. Mikroorganizmalar sütte bulunan protein, laktoz ve yağı kullanarak meydana getirdikleri parçalanma ürünleri ile peynirin tat ve aromasının oluşmasında etkili olmaktadır. Süte starter olarak katılan veya sütün doğal florasında yer alan laktik asit bakterileri, peynirin kalitesi üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Dağdemir, 2006). İzmir Tulum Peyniri üretiminde starter kültür kullanımı ile ilgili pek çok çalışma bulunmakla birlikte, bu çalışmalarda kullanılan starter kültür kombinasyonlarında *Enterococcus* türleri de yer almıştır. Ancak kullanılan kültürler teknolojik ve probiyotik özellikleri belirlenmiş suşlar arasından seçilmemiş ayrıca ana starter kültür tek suş olarak eklenmiş, *Enterococcus* karışımı olarak kullanılmamıştır.

Bu çalışmada,

- Birincil olarak çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden *Enterococcus* türlerinin izolasyonu, tanılanması gerçekleştirilmiştir.
- Tanısı yapılan suşların teknolojik ve probiyotik özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre probiyotik özellik gösteren *Enterococcus* türlerinin teknolojik özellikleri değerlendirilmiş ve peynir üretimi için uygun olabilecek suşlar ayrılmıştır.
- Probiyotik özellikteki suşlar arasından proteolitik aktiviteli, uygun asitlik gelişimi sağlayanlar seçilerek eşit oranlarda birleştirilmiştir.
- Çalışmanın ikinci aşamasında ise peynir üretimine uygun probiyotik *Enterococcus* türlerinden karışım yapılarak peynir kültürü ile farklı oranlarda kombinasyonlar hazırlanmış ve İzmir Tulum Peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanılmıştır.

- Çalışmada, kültür kullanılarak geleneksel tipte İzmir Tulum Peyniri özelliklerine yakın, gerek kimyasal ve biyokimyasal özellikler açısından ve gerekse mikrobiyolojik ve duyuşal açıdan geleneksel tat ve aromaya sahip yüksek kalitede İzmir Tulum Peyniri üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanında hangi oranda enterokok ilavesinin uygun sonuçlar verebileceği belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 *Enterococcus* türlerinin İzolasyonu, Tanılanması ve Probiyotik Özellikleri İle İlgili Çalışmalar

Gökovalı (1980) Teneke Tulum Peyniri'nin olgunlaşması süresince 128 adet *Streptococcus* ssp. izole etmiş, bunlardan 74'ünü *E. durans*, 31 tanesini *E. faecium*, 16'sını *E. faecalis*, 7 tanesini *E. faecalis* ssp. *liquefaciens* olarak tanılamıştır. Araştırmada baskın mikroorganizmaların *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türlerinin olduğu, streptokoklar içinde *E. durans*'ın % 58 ile en yüksek oranda bulunduğunu belirlemiştir. Araştırma sonunda Salamuralı Tulum Peyniri üretiminde süt pastörize edildikten sonra *E. faecalis*, *E. durans*, *Lb. casei*, *Leu. dextranicum* ve *Leu. citrovorum*'un saf kültür olarak kullanılması önerilmiştir. Araştırmacı salamuralı peynirlerin olgunlaşması sırasında *E. durans*, *E. faecalis* ile ileri olgunluk devresinde *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Leu. dextranicum* ile *Leu. citrovorum*'un rol oynadığını bildirmişlerdir.

Wessels et al. (1990) çiğ süt, krema, tereyağı ve fermente süt ürünlerinden izole ettikleri *Enterococcus* türlerinin 54 tanesinin *Enterococcus faecium*, 40 tanesinin *Enterococcus faecalis*, 14 tanesinin ise *Enterococcus durans* olduğunu bildirmişlerdir.

Arihara et al. (1991) *Enterococcus faecalis*'in *L. monocytogenes* üzerine antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *Enterococcus faecalis* suşlarının *Listeria monocytogenes* üzerine etkili inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Bostan ve Uğur (1992) taze peynirlerde  $2,5 \times 10^5$  cfu/g olan fekal streptokok grubu mikroorganizma sayısının olgunlaşmanın 60. gününde  $5,9 \times 10^3$  cfu/g seviyesine, 90. günde de  $2,6 \times 10^3$  cfu/g seviyesine düştüğünü ifade etmişlerdir.

Karakuş vd. (1992) üç farklı işletmeden sağladıkları ve starter kültür kullanmaksızın üretilen Beyaz Peynirlerden 3 aylık olgunlaşma döneminin başında ve sonunda izole ettikleri toplam 348 adet laktik asit bakterisinin 111'ini *E. faecalis*, 73'ünü *E. faecium* olarak saptamışlardır.

Kalogridou-Vassiliadou et al. (1994) piyasadan toplamış oldukları 50 adet Anthotyro peyniri örneklerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin büyük çoğunluğunun *Enterococcus* (% 38,5 *E. faecalis* ve % 5,8 *E. faecium* ) türlerinden, % 13,5'inin *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve % 27,9'unun *Leu. paramesenteroides*'den oluştuğunu belirlemişlerdir.

Fariás et al. (1994), peynirden izole ettikleri 4 adet *Enterococcus* suşunun ürettiği bakteriyosinlerin bazı laktik asit bakterilerine karşı aktif olduğunu bulmuşlardır. *Enterococcus faecium* CRL35'nin ürettiği *Enterocin* CRL35, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi gıda patojenlere karşı antimikrobiyel etkili olduğunu ve *Enterocin* CRL35 'in *L. monocytogenes*'e karşı bakterisidal etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Keleş (1995), taze tulum peynirlerinde  $2,13 \times 10^7 - 3,4 \times 10^7$  cfu/g arasında bulunan fekal streptokok grubu mikroorganizma sayısının olgunlaşmanın 90. gününde  $11 \times 10^6 - 2,20 \times 10^7$  cfu/g düzeyinde bulunduğunu saptamıştır.

El-Zayat et al. (1995) 10 adet ticari Domiati peyniri örneğinden yaptığı izolasyonlar sonucunda peynir florasında *Lb. farciminis*, *Lb. alimentarius*, *Lb. casei*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Propionibacterium jensenii*, *Microbacterium lacticum* ve *Brevibacterium linens*'in bulunduğunu ve bu mikroorganizmaların peynir aromasını etkilediğini belirtmiştir.

Keleş ve Atasever (1996) de Divle tulum peyniri numunelerinde ortalama  $5.58 \times 10^7$  cfu/g düzeyinde fekal streptokok grubu mikroorganizma tespit edildiğini belirtmişlerdir.

Arizcun et al. (1997) koyun sütünden yapılan Roncal ve Idiazabal peynirlerinde 282 enterokok suşu izole etmiştir. Roncal peynirinde bulunanların % 87'sinin *E. faecalis*, % 7'sinin *E. faecium* ve % 6'sının *E. avium* olduğu ve benzer şekilde; Idiazabal peynirinde de % 85 *E. faecalis*, % 10,2 *E. faecium*, % 1 *E. durans* ve % 3,1 *E. avium* bulunduğu belirlenmiştir (Gürsoy ve Kesenkaş, 2011).



Giraffa and Sisto (1997) bazı peynirlerden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının vankomisin'e direnç göstermediğini tespit etmişlerdir.

Zarate et al. (1997) geleneksel yöntemlerle ürettikleri Tenerife peyniri florasından izole ettikleri, 179 adet laktik asit bakterisinin 68 tanesini *Enterococcus* ( 31 *E. faecalis*, 24 *E. faecium*) olarak belirlemişlerdir.

Rossi et al. (1999) *E. faecium* CRL 183 suşunun probiyotik özellik potansiyelini düşünerek, yeni bir fermente soya sütü üretimi geliştirmek için kullanmıştır. *E. faecium* CRL 183 ve *Lactobacillus yogurtii*'nin birlikte kullanımı in vitro olarak gerçekleştirilen çalışmada kolesterol seviyesinde % 43 azalma sağlamıştır. Probiyotik olarak enterokok türlerinin kullanıldığı başka bir çalışmada *E. faecium* SF68 kullanımı antibiyotiğe bağlı diyareye karşı klinik olarak etkili bulunmuştur (Yoon et al., 2008).

Audisio et al. (1999), *Enterococcus faecium* J96 suşu ile yaptıkları çalışmada söz konusu bakterinin intestinal sistemde laktobasillere göre daha dayanıklı olduğunu ve bazı *Salmonella* türlerine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Durlu-Özkaya (2001) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladığı Beyaz Peynir örneklerinden izole ettiği 85 adet laktik asit bakterisinden 13 tanesini *Lc. lactis* ssp. *lactis*, 14 tanesini *Lb. plantarum*, 3 tanesini *Lb. casei*, 1 tanesini *Lb. brevis*, 18 tanesini *E. durans*, 29 tanesini *E. faecium*, 7 tanesini de *E. faecalis* olarak tanılamıştır.

Mendez et al. (2001) İspanya'nın Galiçya bölgesinde geleneksel olarak üretilen Tetilla peyniri örneklerinden izole ettikleri 166 adet laktik asit bakterisinin 40'ını laktokok, 26 sını laktobasil, 16'sını lökonostok ve 84'ünü enterokok olarak tanılamışlar, izole ettikleri enterokoklar arasında baskın türün *E. faecalis* olduğunu belirlemişlerdir.

Foulquie Moreno et al. (2003) *E. faecium* B1 ve B2'nin oluşturdukları enterosin P, enterosin L50A ve enterosin L50B'nin, Ennahar et al. (1998) ise

enterosin 81'in, *Listeria monocytogenes* gibi gram pozitif bakteriler üzerine inhibitör etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Temmerman et al. (2002) Avrupa piyasasında satılan 55 farklı probiyotik üründen izole edip tanıladığı 187 *Enterococcus* izolatının kanamisin (30µg), vankomisin (30µg), tetrasiklin (30µg), penisilin G (10µg), eritromisin(10 µg) ve kloramfenikol (30 µg) gibi bazı antibiyotiklere karşı direncini belirlediği çalışmada, 29 *E. faecium* suşunun %38'inin vankomisine, % 90'ının kanamisine, % 24'ünün tetrasikline, % 97'sinin eritromisine, % 41'inin Penisilin G'ye, % 34'ünün kloramfenikole dirençli olduğunu belirlemişlerdir.

Bulut (2003) geleneksel çömlük peynirinden izole ettiği 113 kok izolatından 59 adedini Enterokok olarak tanılamıştır. Tür düzeyinde yaptığı ileri tanılamada Enterokok'lardan 30'u *E. faecium*, 8'i *E. faecalis*, 3'ü *E. avium*, 2's, *E. durans*, 16'sı *Enterococcus* ssp. olduğunu ortaya koymuştur.

Foulquie Moreno et al. (2003) ürettikleri model Cheddar peynirinde *Enterococcus faecium* RZS C5 ve *Enterococcus faecium* DPC 1146 suslarını karışık kültür olarak kullanmışlar ve bu bakterilerin enterosin üretiminin, peynirin olgunlaştırma aşamasının sonuna kadar devam ederek indikatör *Listeria* LMG 13568 susunu inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Franz et al. (2003) peynirlerden izole edilen *Enterococcus faecium* WHE 81 suşunun *Listeria monocytogenes*'i inhibe eden enterocin A ve enterocin B ürettiklerini bildirmistir.

Saavedra et al. (2003) ev yapımı bir Arjantin peyniri olan Tafi peynirinden 122 adet *E. faecium* suşu izole etmiştir. Söz konusu 122 suştan 9 suşun kolesterol düşürücü özelliği olduğu, 6 suşun bakteriyosin üretme kabiliyetinde olduğu (bunlardan 2 suşun anti-*Listeria* özelliği olduğu) ve probiyotik olarak uygulamada kullanılacak bu suşların virülans özelliği olmadığı belirlenmiştir (Gürsoy ve Kınık, 2006a).

Çıtak vd. (2004) 30 farklı Beyaz Peynir örneğinden 101 adet enterokok türü izole etmişler, yaptıkları identifikasyon çalışmaları sonucunda 62 tanesinin *E.*

*faecalis*, 25 tanesinin *E. faecium*, 7 tanesinin *E. durans*, 5 tanesinin *E. mundtii*, 2 tanesinin ise *E. hirae/dispar* olduğunu belirlemişlerdir.

Franzetti et al. (2004) farklı kaynaklardan izole ettiği 64 *Enterococcus* türünü hem fenotipik hem de genotipik olarak tanılamışlar, tanılama sonucunda 44 izolatu *E. faecium*, 16 izolatu *E. faecalis*, 3 izolatu da *E. durans* olarak tanıfıye etmişler, 1 izolatu ise tanılayamamışlardır.

Canzek Majhenic et al. (2005) Tolmınc peynirinden izole ettikleri *Enterococcus* türleri arasında *E. faecalis* türlerinin dominant olduğunu ve bu suşların antibiyotiklere karşı yüksek hassasiyet gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Erdoğan ve Gürses (2005) Tulum Peynirinin 4 aylık olgunlaşma süresi sonunda % 53 *Enterococcus*, % 23 *Lactobacillus* içerdığını kaydetmiştir.

Karakaş (2005) çeşitli marketlerden 30 adet peynir örneği toplamış ve bu örneklerden *E. faecium* izole etmeye çalışmıştır. Araştırma sonunda izole edilen bakteriler arasında 3 adet *E. faecium*, 1 adet *E. durans* ve 1 adet *E. avium* izole etmiş, bu suşların vankomisine direnç göstermediğini belirlemiştir.

Öksüztepe vd. (2005), tulum peynirlerinde *Streptococcaceae* ailesinde yer alan *Enterococcus* türlerinin, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ve *Lc. lactis* subsp. *lactis* ile *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*'in olgunlaşmada başlıca sorumlu organizmalar olarak bildirmişlerdir.

Çakmakçı et al. (2008) Tulum Peyniri'nin 9 aylık olgunlaşma periyodu süresince laktik asit bakteri profilini belirlemiş ve en yüksek laktik asit bakteri miktarının olgunlaşma başında olduğunu ve bu sayının ilerleyen süreçlerde azaldığını belirlemişlerdir. Yaptıkları tanılama çalışması sonucunda olgunlaşmamış peynirlerde *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Pediococcus* gibi farklı genoslardan bakteriler bulunduğunu saptamış, fakat peynirlerde olgunlaşma başında *Lactobacillus* türlerinin, ilerleyen olgunlaşma aşamalarında ise *Lactobacillus* ve *Enterococcus* türlerinin dominant olarak bulunduğunu saptamışlardır.

Etöz (2006) kefirde izole ettiği *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* bakterilerinin klinik, süt ve peynir kaynaklı *Staphylococcus*, *Listeria*,

*Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Escherichia*, *Aeromonas* gibi indikatör bakteriler üzerinde yüksek inhibitör aktivitesi gösterdiğini tespit etmiştir.

Jurkovic et al. (2006) Brindza peynirinden izole ettikleri *Enterococcus* suşlarının vankomisin'e karşı direnç göstermediklerini belirtmişlerdir.

Gürses ve Erdoğan (2006) kendi ürettiği tulum peyniri örneklerinin 90 günlük olgunlaşma periyodu süresince 253 laktik asit bakterisi izole etmiş ve bu bakterileri geleneksel yöntem ve API testleri ile tanılamıştır. Çalışmada 133 *Lactobacillus*, 44 *Pediococcus*, 29 *Enterococcus*, 27 *Leuconostoc* ve 8 *Lactococcus* tanılamış ve 12 adet bakteriyi tanılayamamıştır. Tanısı yapılan *Enterococcus* türlerinin ise dağılımını 14 *E. faecalis*, 1 *E. faecium*, 3 *E. durans* ve 11 *Enterococcus* ssp. olarak tanılamıştır.

Kala (2006) Ankara'nın çeşitli süpermarketlerinden topladığı 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinden toplamda 63 *Enterococcus* türü izole etmiş, izole ettiği bakterilerin 28 adedini *E. faecalis*, 12 tanesini *E. faecium*, 7 dedini *E. hirae*, 6 adedini *E. durans*, 4 adedini *E. gallinarum*, 4 adedini *E. mundtii*, 2 adedini ise *E. raffinosus* olduğunu belirtmiştir.

Muguerza vd. (2006) çiğ süttten izole ettikleri *E. faecalis* suslarını kullanarak üretmiş oldukları fermente sütlerde, bu susların potansiyel ACE inhibitörü aktivitesine sahip peptit oluşumunu sağladığını ve dolayısıyla antihipertansif bir etki gösterdiklerini bildirmişlerdir (Dağdemir ve Özdemir, 2006).

Torres-Llanez et al. (2006) ise; Meksika'da ticari olarak üretilen taze peynirde enterokoklar arasında baskın türlerin *E. faecium* olduğunu ancak inceledikleri peynirin *E. durans* ve *E. faecalis* gibi türleri de içerdiğini bildirmişlerdir.

González et al. (2007) ürettikleri ve olgunlaştırdıkları Genestoso peynirlerinden izole ettikleri 395 adet laktik asit bakteri izolatından 137 tanesinin *Lactobacillus*, 125 tanesinin *Lactococcus*, 58 tanesinin *Leuconostoc* ve 75 tanesinin ise *Enterococcus* cinsine ait olduğunu belirlemişlerdir.

Hajikhani et al. (2007) Beyaz Peynir örneklerinden izole ettikleri 12 adet enterokok suşunun bazı gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivitelerini incelemişler ve yaptıkları çalışma sonucunda bu suşların özellikle *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, diğer *Bacillus* türleri ve bazı enterokok türlerine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Annamalai et al. (2009) Mangrov bitkisi ortamından izole ettiği *E. faecium*'un *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *Salmonella typhi* ve *Salmonella paratyphi* gibi gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite özelliklerini incelemişler, test bakterileri arasında en yüksek aktivitenin *L. plantarum*, *E. faecalis* ve *L. monocytogenes*'e karşı olduğunu saptamışlardır.

Bilgin (2008) Tokat yöresinde geleneksel olarak üretilen beyaz peynirden bakteriyosin üreten bir bakteriyi *E. faecium* HZ olarak tanılamış ve ürettiği bakteriyosini Enterosin HZ olarak tanılamıştır. Yapılan antimikrobiyal aktivite testinde Enterosin HZ'nin LAB'den *Lb. plantarum*, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides*, *E. faecalis*, *E. faecium* ile gıda kaynaklı patojen bakterilerden *L. monocytogenes* ve *B. cereus* karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir

Navidghasemizad et al. (2009) koyun sütünden elde edilen Lighvan peynirinden izole ettikleri 413 adet izolattan 87 adet *Enterococcus faecium*, 68 adet *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, 55 adet *Enterococcus faecalis* ve 48 adet *Lactobacillus plantarum* olarak saptamıştır.

Tuncer (2009) Türk tipi tulum peynirinden 39 enterokok türü izole etmiş ve bunların 17 adedinin *E. faecium*, 11 adedinin *E. durans* ve 11 adedinin ise *E. faecalis* olduğunu ifade etmiştir. Araştırmacı izole ettiği enterokok türlerinin vankomisine hassas olduğunu (30µg/disk; inhibisyon zonları 12 mm'den yüksek), 3 *E. faecium* ve 1 *E. durans* suşunun bakteriyosin üreticisi olduğunu ve *E. faecalis* suşlarının daha yüksek proteolitik ve lipolitik aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca hiçbir suş histidin, lizin veya ornitin'i dekarboksile etmezken, 36 suş tirozinden tiramin üretilmiştir.

Elçioğlu (2010) yaptığı çalışmada yedi Kargı tulum peynirinden toplam 96 LAB izolatı elde edilmistir. İzolatlar, API CH50 ve API 20Strep identifikasyon sistemi ile tanılanmıştır. Buna göre; 22 izolat *Lactobacillus plantarum*, 11 izolat *Lb. brevis*, 9 izolat *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, 3 izolat *Lb. pentosus*, 3 izolat *Lb. fermentum*, 1 izolat *Lb. curvatus* subsp. *curvatus*, 1 izolat *Lb. rhamnosus*, 9 izolat *E. durans*, 5 izolat *E. faecium*, 3 izolat *Streptococcus thermophilus*, 1 izolat *St. mitis*, 1 izolat *St. equinus* olarak tanılanmıştır. 8 izolat *E. faecium/durans*, 1 izolat *E. faecium/gallinarum*, 1 izolat *E. faecium/faecalis*, 1 izolat *E. gallinarum/casseliflavus* ve 1 izolat *St. acidominimus/pluranimalium* tür düzeyinde tanılanabilmiştir. İzole edilen enterokok türlerinin vankomisine dirençli olduğunu belirlemiş ve izole ettiği *Lb. brevis* (37, 44), *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (43) and *E. faecium* (71)'un; insanlardaki biyolojik engellere (% 1-3 safra tuzu, 1-3 aralığındaki pH değerleri, oksijen varlığı/yokluğu) dayanıklılıkları, bazı antibiyotiklere dirençli olmaları, laktaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diasetil ve/veya bakteriyosin benzeri maddeler üretmeleri nedeniyle, probiyotik kültür olarak en fazla ümit vaad eden suşlar olduğunu bildirmiştir.

Jamaly et al. (2010) Fas süt ürünlerinden 23 adet *E. durans* izole ederek tanılanmış, bu suşların teknolojik ve biyokimyasal özelliklerini incelemiştir. Çalışmada suşların sütte zayıf asidifikasyon ve otoliz aktivitesi, buna karşın yüksek hücre dışı proteolitik aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Tüm izolatlar ekzopolisakkarit üretmiş, pek çoğu sitratı metabolize etmiş ve yüksek lisin konsantrasyonunu tolere etmiştir.

Kırmacı (2010) Şanlıurfa ilinin farklı bölgelerinde geleneksel olarak üretilen 20 adet taze peynir örneği toplamış ve bu örneklerden 143 adet laktik asit bakterisi izole etmiştir. Gerçekleştirdiği tanılama sonucunda 143 izolatın % 48.95 *Enterococcus* spp., % 40.55'inin *Lactococcus* spp., % 9.10'unun *Lactobacillus* spp., % 0.69'unun *Streptococcus* spp., % 0.69'unun ise *Leuconostoc* spp. türüne ait olduğu belirlenmiştir. En baskın tür olarak tespit edilen enterokokların % 40,0'ı *Enterococcus faecium*, % 32.8'i *E. durans*, % 18.5'i *E. faecalis*; laktokoların % 62.71'i *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, % 30.50'si ise *Lactococcus garvieae* olarak sınıflandırılmıştır.

Silva do Nascimento et al. (2010) *E. faecium* FAIR-E 198'in 25 farklı *B. cereus*, 10 farklı *L. monocytogenes* ve 10 farklı *Staph. aureus* üzerine antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Araştırma sonunda *E. faecium* FAIR-E 198'in tüm *L. monocytogenes* suşlarına etki ettiği, buna karşın tüm *B. cereus* ve *Staph. aureus* suşlarına etki göstermediği belirlenmiştir.

Korucu (2012) Elazığ yöresinde mahalli olarak üretilen ve yöre pazarlarında satışa sunulan bir süt ürünü olan Tomas peynirlerinden seçilen 16 farklı örnekten 20 adet çubuk ve 25 adet kok şeklinde laktik asit bakterisi izole etmiştir. Tanılama sonuçlarına göre toplam 16 izolatı *Enterococcus faecium* olarak, 8 izolatı *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* olarak, 6 izolatı *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* olarak, 5 izolatı *Lactobacillus plantarum* olarak, 5 izolatı *Lactobacillus brevis* olarak, 2 izolatı *Lactobacillus collioides* olarak, 2 izolatı *Lactobacillus curvatus* olarak ve 1 izolatı da *Lactobacillus salivarius* olarak tanılamıştır.

İsviçre'de üretilen ve probiyotik olarak kullanılan *E. faecium* SF 68 suşu üzerine yapılan çalışmalar sonucu, bu suşun antibiyotiğe bağlı diyarelerden korunmada ve çocuklarda görülen diyarelerin tedavisinde etkili olduğu ileri sürülmüştür. Belçika'da bulunan iki hastanede *E. faecium* SF 68'in yetişkinlerde akut diyareye etkileri de incelenmiştir. Bu tip diyarede (sınırlı) kısa sürede iyileşme (6 günde %95'ten fazla düzelme) olmasına rağmen, enterokok kullanımı diyare süresini 1 -3 gün kısaltmıştır. Danimarka'da *E. faecium* SF 68 içeren bir fermente süt ürünü, hipokolesterolemik etkisi nedeniyle ticari olarak üretilmektedir. Bununla beraber, aynı suş ile yapılan 2 uzun süreli çalışmada (her biri 12 hafta ve 6 ay) kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, tüketicilerin tedavi süresi sonunda kolesterol seviyelerinde herhangi bir azalma görülmemiştir (Foulquié Moreno et al., 2006).

İzmir Tulum Peyniri de dahil olmak üzere tulum peynirlerinin mikrobiyal özellikleri ve laktik asit bakteri profillerinin tür ve suş düzeyinde belirlenmesi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır (Güven et al., 1995; Çağlar, 2001; Öner et al., 2003; Erdoğan and Gurses, 2005; Öksüztepe et al., 2005).

## 2.2 Peynir Teknolojisinde *Enterococcus* Türlerinin Kullanımı ve Kültür Kullanılarak Üretilen Tulum Peynirleri İle İlgili Çalışmalar

Kosiowski and Dahlber (1948) Cheddar peyniri üretiminde *E. faecalis*'i destek kültür olarak kullandığı çalışmada, peynirlerin normal starter kullanılarak üretilen kontrol örneğine göre daha çabuk olgunlaşma gösterdiğini ve aroma özelliklerinin daha yoğun olduğunu belirlemiştir.

Jensen et al. (1973) ise Cheddar peynirinde *E. durans*'ı destek kültür olarak kullanmış ve serbest yağ asitleri konsantrasyonunun arttığını ve aroma özelliklerinin geliştiğini saptamıştır.

Neviani et al. (1982) İtalyan ev yapımı peynirlerin üretiminde enterokokları starter kültür olarak kullanmış ve üretilen peynirlerin kontrol örneğine göre daha yüksek proteoliz ve organoleptik özellikler gösterdiğini öne sürmüştür.

Arıcı ve Şimşek (1991) tulum peyniri üretiminde *L. lactis* + *L. cremoris* + *Leu. citrovorum*; *L. lactis* + *L. cremoris* + *Leu. citrovorum*; *L. lactis* + *L. diacetylactis* + *Leu. citrovorum* kültür kombinasyonlarını kullanmışlar ve sonuçta duyu özellikleri açısından farklılık saptayamazken, mikrobiyolojik olarak kültürlü örneklerin daha iyi durumda olduğunu belirlemişlerdir.

Kılıç ve Gönç (1992), İzmir Tulum peynirinden yapmış oldukları izolasyonlar sonucunda *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* türlerini yüksek oranda tespit etmişler ve üretimde starter kültür kullanılacaksa bu grup bakterilerden *E. faecalis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve subsp. *cremoris* ile *Lb. casei* türlerinin seçilmesini uygun bulmuşlardır.

Bostan ve Uğur (1992) çiğ süttten ve *Lc. lactis* + *E. faecalis*; *Lc. lactis* + *Lb. casei* kültürleri kullanarak pastörize süttten tulum peyniri üretmişlerdir. Sonuçta duyu özellikleri açısından *Lc. lactis* + *L. casei*'nin kullanıldığı örneklerin daha çok beğeni kazandığını, çiğ süttten yapılan peynirlerde koliform, Stafilokok ve *E. faecalis*'in ilave edildiği grup hariç fekal streptokokların kültürle yapılanlardan daha yüksek bulunduğu saptanmıştır.



Litopoulou-Tzanetaki et al. (1993) ve Tzanetakis *et al.* (1995) *E. durans* kullanılan Feta peynirinde kitle ve yapının daha iyi geliştiğini, destek kültürün *Lactococcus* ve *Streptococcus* gelişimini teşvik ettiğini belirlemişlerdir.

Gürsel vd. (1994) yerel kaynaklı *Lc. lactis* S1, *E. durans* C20, *E. faecalis* 25 ve *Lb. plantarum* L8 kombinasyonu ile *Lc. lactis* CH, *E. durans* CH, *E. faecalis* CH, *L. lactis* CH suşlarından oluşan ithal kültür kombinasyonlarının Beyaz peynir yapımında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Casalta and Zennaro (1997) yumuşak bir Korsika peyniri olan Venaco üretiminde *Lc. lactis* ssp. *lactis* ve *E. faecalis* starter kültürlerinin kullanımını irdelemiş, enterokok içeren peynirlerde daha yüksek proteoliz düzeyi belirlemiştir.

Garde et al. (1997) bakteriyosin üreten *E. faecalis* INIA 4'ü (peynir sütüne %0.003 ve % 0.1 seviyelerinde ilave ederek) destek kültür olarak yarı sert Hispanico peyniri üretiminde kullanmış ve destek kültürün peynir aroması oluşumu üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada % 0.003 oranında destek kültür içeren süttten yapılan peynirde kontrol grubuna göre daha belirgin bir proteoliz ve daha hızlı lezzet gelişimi olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar düşük inokulasyon oranının peynirde olgunlaşmayı hızlandırmak için rahatlıkla kullanılabileceğini belirlemiştir (Gürsoy ve Kımık, 2006).

Gönç vd. (1997) geleneksel yöntem ve *Lc. cremoris*, *Lc. lactis* ve *E. faecium* içeren kültür kullanarak iki tip peynir üretmişlerdir. Araştırma sonunda kurumadde, yağ, tuz, kül, protein, olgunlaşma indeksi, pH, serbest yağ asitleri değerlerinin farklılık gösterdiği, duyuasal açıdan kültür kullanılarak üretilen peynirlerin daha çok beğenildiği saptanmıştır.

Centeno et al. (1999) *E. faecalis* kullanarak ürettikleri Cebrerio peynirinde uçucu yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitleri, diasetil ve asetoin içeriklerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Dağdemir ve Özdemir, 2006).

Gardiner et al. (1999a,b) Cheddar peynirinde probiyotik *E. faecium* PR88 suşununun gelişme özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada peynir sütüne  $2 \times 10^7$  cfu/g starter kültür ilave edildiğinde, ilave edilen mikroorganizmaların 9 ay

olgunlaşma süresince  $3 \times 10^8$  cfu/g seviyelerinde canlılıklarını sürdürdüklerini tespit etmişlerdir. Çalışmada olgunlaşma periyodu boyunca kontrol peyniri ile PR88 suşu ilave edilen peynir karşılaştırıldığında PR88 suşunun ilave edildiği peynirde proteolizin arttığı ve yüksek seviyelerde koku-aktif uçucu bileşiklerin meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca, PR88 suşunun ilavesi peynir kompozisyonuna ve peynirin duyuşal özellikleri üzerine etki etmemiştir (Gürsoy ve Kınık, 2006b).

Oumer et al. (2001), *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* ve *Leu. mesenteroides* ssp. *cremoris* içeren mezofilik ticari starter kültür kullanarak inek ve koyun sütü karışımından (4:1) yarı sert bir İspanyol peyniri olan Hispanico peyniri üretmişlerdir. Üretimde bakteriyosin üreten destek kültür olarak peynir sütüne farklı oranlarda (0-1 g/kg) *E. faecalis* INIA 4 kültürü ilave etmişlerdir. Destek kültür asidifikasyona etki etmezken, starter laktokokların canlılığını, proteoliz seviyesini ve aroma bileşikleri konsantrasyonunu oldukça önemli düzeyde etkilemiştir. 1g/kg destek kültür kullanılarak üretilen 45 günlük peynirde toplam proteoliz ve toplam serbest amino asit seviyeleri kontrol peynirinden sırasıyla 1.8 ve 2.17 kat yüksek çıkmıştır (Gürsoy ve Kınık, 2006).

Vuyst et al. (2003) bakteriyosin üreten *Enterococcus faecium* suşlarının peynir yapımında koruyucu kültür ya da karışık kültür olarak kullanıldıklarında, *Listeria* ve *Clostridium*'a karşı antibakteriyel etkisi olduğunu ve bu suşların olgunlaşmaya da katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Foulquie Moreno et al. (2003) Cheddar peynirinde *Enterococcus faecium*'un yardımcı kültür olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Denemede, peynir üretiminin başlangıç aşamasından olgunlaşma aşamasına kadar her aşamada enterosin aktivitesi belirlenmiştir. Araştırma sonucunda iyi üretim koşullarının uygulanmasının yanında bu uygulamanın peynirin mikrobiyolojik güvenliğine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (Altuntaş ve Ayhan, 2010).

Öner vd. (2005) Tulum Peyniri kalitesi üzerine starter kültür kullanımının etkileri ve Tulum Peyniri üretimine uygun starter kültür karışımının belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Bu amaçla çiğ süttten izole edilen ve starter kültür olarak

kullanılan *Lb. plantarum* 1, *Lb. plantarum* 48, *Lc. lactis* 57, *E. faecalis* 40'ın farklı oranlardaki karışımlarını kullanarak 3 farklı peynir üretmişlerdir. Çalışma sonunda % 25 *Lb. plantarum* 1, % 25 *Lb. plantarum* 48, % 25 *Lc. lactis* 57 ve % 25 *E. faecalis* 40 karışımının duyuşal açıdan daha fazla beğenildiğini belirlenmiştir.

Dağdemir (2006) 30 adet Salamura Beyaz Peynir örneğinden izole ettiğı laktik asit bakterilerini incelemiş ve peynir örneklerinde hakim florayı *Enterococcus* ve *Lactobacillus* türlerinin oluşturduğunu, yapılan tanılama sonucunda izolatların % 24,71'inin *E. faecalis*, % 17,9'unun *E. faecium*, % 19,66 *L. fermentum* olduğunu belirlemiştir. İzole ettiğı düşük proteolitik aktiviteli *E. faecalis* *E. fs* 3 suşunu yağı azaltılmış Beyaz Peynir üretiminde kullanmış ve kullandığı *E. faecalis* kültürünün peynirlerin asitlik seviyesini arttırdığını, pH'yı daha fazla düşürdüğü, tat ve aromayı geliştirerek duyuşal açıdan daha çok beğeni topladığını, peynirin tekstürel özelliklerini geliştirdiğini ve olgunlaşmayı hızlandırdığını saptamıştır. Araştırmacı Beyaz Peynir üretiminde *Enterococcus* türlerinin virulens faktörleri ve biyojen amin oluşturma özellikleri incelendikten sonra yardımcı kültür olarak kullanımının faydalı olabileceğini ifade etmiştir.

Arslaner (2008) iki farklı metot kullanılarak Tulum peyniri üretilmiştir. Birinci metotta geleneksel üretim şekli esas alınmış, ikinci metotta ise 65°C'de 30 dakika süreyle ısıl işleme tabi tutulan inek ve koyun sütü kullanılmıştır. Ayrıca mayalama işleminden önce mezofilik aromatik starter kültür (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteorides* subsp. *cremoris* ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*) ilave edilmiştir. Araştırma sonucunda peynirlerin ortalama % kurumadde miktarı 56,51-74,22, yağ 27,66-35,81, titrasyon asitliği 0,627-1,005, pH 5,07-5,17 ve tuz içerikleri 3.95-5.438 arasında değişmiştir.

Bayar (2008) geleneksel Tulum peynirinin üretim safhaları dikkate alınarak starter kültür, pastörizasyon ve farklı ambalajların (deri, plastik bidon, bez, tahta ve polietilen ambalaj) olgunlaşma süresince peynirin kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal niteliklerine etkileri incelemiştir. Pastörize sütten üretilen peynir numunelerinin yüzde kurumadde (53,99-73,66), protein (17,92-33,60), tuz (3,18-4,66) ve asitlik değerleri (5-115°SH) çiğ sütten üretilen peynirlere nazaran daha yüksek bulunmuştur. Pastörize sütten üretilen Tulum

peynirlerinin; koliform, maya-küf ve genel canlı sayısı bakımından çiğ süttten yapılan peynirlere nazaran daha sağlıklı olduğu tespit edilmiştir.

Göncüoğlu vd. (2009) *E. faecium*'un yüksek sıcaklıkta pastörize edilen süttten üretilen peynirlerin olgunlaşma süreleri ve yapı bozuklukları üzerine etkilerinin incelenmesi ve dolayısıyla Türk tipi beyaz peynirinde fonksiyonel starter kültür olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, iki tip (klasik - yüksek pişirme) beyaz peynir üretilmiştir. Peynir grupları vakum ambalajlanarak, 4°C'de 90 gün olgunlaştırılmış ve olgunlaşma periyodunun farklı aşamalarında mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal nitelikler yönünden incelenmiştir. Olgunlaşma süresi sonuna kadar, her iki peynir tipine ait deneme gruplarında *E. faecium* FAIR-E 198'in,  $10^7$  kob/g düzeyinin üzerinde olduğu saptanmıştır. Laktik asit yönünden iki peynir tipi arasında farklılık belirlenememesine karşın, kuru madde, kuru maddede yağ, kuru maddede tuz ve protein içeriği yönünden iki peynir tipi arasında farklılık bulunmuştur. En yüksek duyuşsal puanların ise klasik peynirin deneme grubuna ait olduğu gözlenmiştir. Çalışma bulguları doğrultusunda, *E. faecium* FAIR-E 198'in beyaz peynirin daha kısa sürede tüketime sunulmasını sağlayabileceği ve beyaz peynir üretiminde fonksiyonel starter kültür olarak kullanılabilceği sonucu elde edilmiştir.

Gürsoy ve Kınık (2010) Beyaz Peynir üretiminde *E. faecium*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* ve *B. bifidum* probiyotik bakterileri destek olarak kullandığı çalışmada; üretilen peynirlerin 90 günlük depolama süresince probiyotik özelliklerini koruduğunu ve duyuşsal özelliklerinin geliştiğini belirlemiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 *Enterococcus* türleri

Çalışmanın materyalini oluşturan *Enterococcus* türleri çeşitli çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilmiştir. Bu amaçla 18 adet İzmir Tulum Peyniri, 4 adet çiğ süt, 3 adet köy peyniri, 2 adet Beyaz Peynir, 2 adet tereyağı, 1 adet Ezine Peyniri, 1 adet kefir tanesi, 1 adet kefir, 1 adet armola, 1 adet Tire Çamur Peyniri, 1 adet lor, 1 adet otlu peynir, 1 adet keçi peyniri ve 1 adet çeçil peyniri örneği toplanarak bu örneklerden izole edilen *Enterococcus* türlerinin tanısı yapılmış, teknolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. Uygun özellik gösteren tür ve/veya suşlar İzmir Tulum Peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanılmıştır.

##### 3.1.2. İndikatör mikroorganizmalar

*Enterococcus* tür ve suşlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 İzmir İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan, *Pseudomonas fluorescens* NRRL-B6 ARS kültür koleksiyonları (NRRL)'nden, *Aeromonas hydrophilia* Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan, *Campylobacter jejuni* ise İzmir Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

##### 3.1.3 Çiğ süt

Peynirlerin üretimi Şemsi Egi Gıda Ürünleri Ltd. Şti.'de gerçekleştirilmiştir. Üretimde İzmir'in çeşitli bölgelerinden temin edilen çiğ inek sütü kullanılmıştır.

### 3.1.4 Peynir mayası

Peynirlerin üretiminde 1/25.000 kuvvetinde Naturen® Mandra 155 (Peyma, Hansen-İstanbul) hayvansal peynir mayası kullanılmıştır.

### 3.1.5 Starter kültür

Araştırmada dondurularak kurutulmuş formda *Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris* içeren CM11 peynir kültürü (Maysa® My Starter, Tuzla, İstanbul-Türkiye) ve probiyotik özellikleri belirlenmiş ve 4 farklı *Enterococcus* ssp.'den oluşan kombinasyon kullanılmıştır.

### 3.1.6 Kaya tuzu ve salamura ( NaCl )

Peynirlerin tuzlanması ve salamuranın hazırlanmasında kaya tuzu (Atılğan Tuz Fabrikası, Çanakkale) kullanılmıştır.

### 3.1.7 Ambalaj materyali

Araştırmada kullanılan 4,5 L'lik lake teneke ambalajlar Şimşek Ambalaj A.Ş.'nden (İzmir-Türkiye) temin edilen tenekeler kullanılmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1 *Enterococcus* türlerinin izolasyonu

Aseptik koşullarda 10 g ve/veya 10 mL örnek, steril stomacker poşetine tartılmış ve üzerine 90 ml % 0,1'lik steril peptonlu su solüsyonu ilave edilmiştir. Stomacker kullanılarak iki dakika süreyle homojenize edilmiş ve bu karışımdan 1ml alınarak 9ml'lik %0,1'lik steril peptonlu su solüsyonuna ilave edilerek karıştırılmıştır. Bir önceki dilüsyonlardan 1 ml alınarak dilüsyon serileri hazırlanmıştır (Bracquart 1981). Seçilen dilüsyonlardan, Kanamycin Aesculin Azide Agar (Merck, 1.05222), Slanetz Bartley Medium (Merck, 1.05262) ve M<sub>17</sub> Agar (Merck, 1.015108) kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37°C' de 24 - 48 saat aerobik şartlarda inkübe edilmiş, inkübasyon sonunda besiyerlerinde gelişen kolonilerden tek düşen, morfolojik olarak birbirinden farklı olan ve *Enterococcus* türü olduğu düşünülen koloniler öze yardımıyla alınarak,

her bir koloni Kanamycin Esculin Azide Broth besiyerine inoküle edilmiş, 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tekrar Kanamycin Esculin Azide Agar besi yerleri kullanılarak çizgi ekim yöntemiyle aktarılmıştır. Böylelikle izolatların saflaşması sağlanmış, saflaştırılan koloniler M-17 Broth’a (Merck, 1.015029) aktarılmıştır (Van de Castele, 2006; Holt et al., 1994). İzolasyonda kullanılan besi yerlerinin bileşimi Ek-1’de verilmiştir.

Tanılamaya alınmadan önce tüm izolatlarda gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır (Atlas et al., 1995; Norrell and Messley, 1997). Gram pozitif katalaz negatif olduğu belirlenen ve morfolojilerine göre sınıflandırılan izolatlar % 20 gliserol içeren M-17 Broth besiyerine aktarılmış ve -20°C’de saklanmıştır. Bunun için, 500 µl, % 40 gliserol (AppliChem A2926) içeren M-17 broth + 500 µl aktif bakteri kültürü eppendorf tüpüne alınmıştır. Besiyeri ve gliserol ayrı şişelerde otoklavlanmış (121°C’de 15 dak.), kullanılmadan önce steril bir şekilde karıştırılmıştır.

### 3.2.2 *Enterococcus* türlerinin fenotipik tanınması

Facklam and Elliott, 1999; Reuter, 1995’in tanılama aşamaları modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin tanınmasında referans kültür olarak *Enterococcus faecium* B-2354, *Enterococcus casseliflavus* B-3502, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus hirae* UWWE 3080, *Enterococcus hirae* UWWE 3102 ve *Enterococcus durans* GE-66 kullanılmıştır.

Gram pozitif katalaz negatif kokların tür düzeyinde tanınması için farklı sıcaklıklarda gelişme (10, 40 ve 45°C’de), farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme (%2, %4, %6.5), pH 9.6’da gelişme, argininden amonyak oluşturma, eskulini parçalama gibi testlerin yanı sıra çeşitli karbonhidratları fermente etme testleri uygulanmıştır. Bunun için 13 farklı karbonhidrat kullanılmıştır (Laktoz, D(-) Fruktoz, D(+) Galaktoz, Maltoz, Melibioz, Salisin, Sakkaroz, D(-) Sorbitol, Raffinoz, L-Arabinoz, D(-) Mannitol, Trealoz ve İnulin).

M<sub>17</sub> besiyerinde 37°C’de 18-24 saat inkübe edilen her bir bakteri kültüründen, Ek 1’de belirtildiği şekilde hazırlanan test ortamlarına yaklaşık % 1

oranında inoküle edilmek suretiyle tanılama testleri gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık testleri için olanlar hariç, tüpler, inoküle edilen bakterinin izole edildiği sıcaklıkta yani 37°C'de inkübe edilmiş, 24. saatte, 48. saatte, 5. ve 7. günlerde incelenmiş, reaksiyonlar pozitif veya negatif olarak kaydedilmiştir.

Reaksiyonların değerlendirilmesi şu şekilde yapılmıştır:

#### Farklı Sıcaklıkta Gelişme Testi

Bulanıklık ve gelişme (+), tersi (-) olarak değerlendirilmiştir.

#### Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Testi

Bulanıklık ve indikatör renginin sarıya dönüşmesi (+), mavi renk ve bulanıklık olmaması (-) olarak değerlendirilmiştir.

#### pH 9.6'da Gelişme

İndikatördeki renk değişimi (sarı-kahve) (+), tersi (-) olarak değerlendirilmiştir.

#### Glukozdan Gaz Oluşturma

Renk değişimi (sarı renk) ve bulanıklık ile birlikte durham tüpü içinde gaz birikimi (+), tersi reaksiyon (-)

#### Arginin'den Amonyak Oluşumu

48 saat sonunda test tüpüne 1 damla Nessler çözeltisi damlatılarak renk değişimi gözlenmiştir. Portakal sarısı renk (+), renk değişimi olmaması (-) değerlendirilmiştir.

#### Esculin Hidrolizi

48 saat sonunda test tüpüne 1 damla % 7 FeCl<sub>3</sub> çözeltisi damlatılarak renk değişimi gözlenmiştir. Siyah renk oluşumu (+), renk değişimi olmaması (-) olarak değerlendirilmiştir.

#### Karbonhidrat Testleri



Sarı renk (+), indikatörün renginin değişmemesi (mavi ve kırmızı renk) (-) olarak değerlendirilmiştir.

#### API Test Kitleri ile Tanılama(Biomérieux, France)

Geleneksel tanılama aşamaları ile tanılanamayan, problem yaşanan yada şüpheli görünen kültürlerde API® 20 Strep test kitleri kullanılarak tanılamalar yapılmıştır.

#### *API® 20 Strep (BioMérieux Ref. 20 600)*

API® 20 Strep, geniş bir kapasiteye sahip 20 kimyasal testi kombine eden standartlaştırılmış bir metottur. Birçok streptokok ve enterokok'un grup veya tür düzeyinde tanılanmasını sağlar. API® 20 Strep stribi, enzimatik aktivitenin ya da şekerlerin fermentasyonunun belirlenmesi için susuz substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Enzimatik testlerde, enzimatik substratları yeniden hidrate etmek için saf bir kültürden yapılmış yoğun bir organizma süspansiyonu ile inoküle edilir. İnkübasyon periyodu sırasında ortaya çıkan son metabolik ürünler spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişiklikleri meydana getirir.

Fermantasyon testlerinde ise, şekerleri hidrate eden, sıvı besiyeri (4 McFarland'dan daha yoğun mikroorganizma süspansiyonundan 500 µl ilave edilmiş) ile inoküle edilir. Karbonhidratların fermantasyonu sonucu pH indikatörünün renginde değişiklikler medyana gelir. Oluşan reaksiyonlar, “okuma tablosuna” göre okunur ve tanılama, analitik profil indeksi ya da bilgisayar ortamında tanılama programı kullanılarak gerçekleştirilir.

API® 20 Strep testi şu şekilde uygulanmıştır:

Hazırlanan M-17 agar (Merck, 1.05108) (Bkz. Ek 1) petrilere dökülmüş ve dondurulmuştur. Her bir izolat ayrı bir petri kutusundaki besiyeri yüzeyine çizgi ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübe edilen petrilerde gelişen koloniler, API® 20 Strep (Ref. 20 600)'in kullanım kılavuzunda anlatılan işlem basamakları uygulanarak test striblerine inoküle edilmişlerdir. Her bir izolat için ayrı strib

kullanılmıştır. Stribler 37°C’de inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyonun 4. ve 24. saatlerinde, yine kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde kontrol edilmişlerdir. Meydana gelen değişiklikler kaydedilmiş ve sonuçlar bilgisayar ortamında tanılama programı (apiweb® stand alone V 1.1.0, BioMérieux) kullanılarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.3 *Enterococcus* türlerinin bazı teknolojik ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi**

#### **3.2.3.1 Asidifikasyon**

% 10 yağsız kurumadde içeren rekonstitüye yağsız sütlerde 24 saatlik inkübasyon sonucu meydana gelen laktik asit miktarları ve pH değişimleri, 3., 6., 9. ve 24. saatlerde belirlenmiştir (Kılıç, 1986).

#### **3.2.3.2 Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi**

Rasic and Kurmann (1978)‘nın belirttiği yöntem kullanılarak suşların EPS üretme yetenekleri belirlenmiştir. Bu amaçla çift kuvvet laktoz içeren M-17 ve çift kuvvet glikoz içeren MRS agar besiyeri ortamlarına aktif kültürlerden bir öze alınarak çizgi ekim tekniği ile ekim yapılmış, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda sünme yapan koloniler incelenmiştir.

#### **3.2.3.3 Lipolitik aktivite**

Suşların lipolitik aktiviteleri Tributyrin Agar (Merck, Darmstant) kullanılarak belirlenmiştir. 10µL hücre süspansiyonu petri yüzeyine nokta ekim yapılarak ve petriler 30°C’de 5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Lipoliz, petri kutusu üzerine 10mL doymuş bakır sülfat solüsyonu döküldükten sonra, kolonilerin etrafının yeşil-mavi olmasıyla belirlenmiştir (Kouker and Mossel, 1987; Leuschner et al., 1997).

#### **3.2.3.4 Vankomisin direnci**

Bu test incelenen *Enterococcus* suşlarının probiyotik karakter taşıyıp taşımadığını belirlemek için önemli basamaklardan biridir. Bu test sonucunda

spesifik antibiyotiğe zayıf direnç gösteren suşlar insan kökenli olarak kabul edilmektedir. Bu da probiyotik bakterilerin insan kökenli olup olmadığının belirlenmesini sağlamaktadır.

Vankomisin direncinin belirlenmesinde 6 ve 12 mg/L seviyesinde vankomisin içeren Kanamycin Esculin Azide Agar (Merck, Darmstadt) kullanılmıştır. Hazırlanan petri kutularına bir gece öncesinden aktif edilen 10 µL saf bakteri kültürü ilave edildikten sonra absorbe olması sağlanmış ve 24 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişim vankomisin direnci (+), gelişim olmaması vankomisin (-) olarak değerlendirilmiştir (Padiglione et al., 2003)

### **3.2.3.5 Antibakteriyel aktivite**

*Enterococcus* suşlarının antimikrobiyal aktiviteleri, gıda patojeni ve bozulma etmeni olan *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Pseudomonas fluorescens* NRRL-B6, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Aeromonas hydrophilia*, *Campylobacter jejuni*'ye karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Tryptic Soy Broth (Fluka, 22092) kullanılarak aktifleştirilen test bakterilerinin her biri % 1 oranında 45 °C'ye soğutulan Tryptic Soy Agar'a (Merck, 1.05458) aşılanmış ve steril petri kutularına dökülerek 1 saat süre ile test bakterisine uygun sıcaklıklarda (25 veya 37°C) inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 6 mm çaplı steril filtre kağıtları kültür bakterisi ile emdirilmiş ve bu diskler katılaştıran besiyeri üzerine yerleştirilmiştir.

Disklerin petri kutularına yerleştirilmeleri bittikten sonra önce 5°C'de 2 saat ön inkübasyona bırakılarak bakterilerin besiyerine diffüze etmeleri sağlanmış, daha sonra 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan zonlar ölçülerek değerlendirilmiştir (Shahani et al., 1976; Kılıç, 1986; Van Belkum et al., 1989; Arslan ve Kılıç, 2003; Akpınar et al., 2011).

### **3.2.3.6 Proteolitik aktivite**

Suşların proteolitik aktivitesi Church et al. (1983)'e göre gerçekleştirilmiştir. 3 mL OPA (Sigma - Aldrich) belirteci 150µL TCA filtratına eklenmiş ve 5 sn. karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 2dk. kadar bekleme sonucu spektrometrede 340 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Değerler OPA (o-phthaldialdehyde) eşdeğeri olarak verilmiştir.

### **3.2.3.7 Dekarboksilaz aktivitesi**

Aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen aminleri üretme yetenekleri Bover-Cid ve Holzapfel (1999)'in belirttiği ve içerisinde lisin ve ornitin aminoasitlerinden herhangi birini içeren besiyeri kullanılarak test edilmiştir. Dekarboksilaz aktivitesini teşvik etmek amacıyla suşlar öncelikle % 0.1 öncül amino asit içeren M-17 brothta 2 kez alt kültüre alınmıştır (Recsei et al., 1985). Aktif kültürler kontrol, lisin ve ornitin içeren Moeller decarboxylase Broth'a % 0.5 oranında aşılanmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonunda kontrol rneği ile karşılaştırma yapılarak oluşan sarı renk dekarboksilasyon (-), mor renk dekarboxylasyon (+) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 8739 referans suşu kullanılmıştır (Snchez Valenzuela et al., 2010).

### **3.2.3.8 Asit direnci**

M-17 Broth'ların pH'ları 2.0, 2.5 ve 3.0'a ayarlanmış ve yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren ve vankomisin direnci saptanmayan aktif kültürler ile % 1 oranında (0.5 McFarland) aşılanmıştır. Kontrol rneği olarak değerlendirilecek örneklere ise aşılama yapılmamıştır (Rossi et al., 1999). 24 saat sonrasında canlılık bulanıklık kontrolü ve Kanamycin Esculin Azide Agar'a 10µL seviyesinde nokta ekim yapılarak kontrol edilmiştir.

### **3.2.4 İzmir Tulum Peyniri üretimi için uygun suşların seçimi**

Peynir üretiminde kullanılacak kültür bakterilerinin, asitlik üretimi, sıcaklığa dayanıklılık, tuza duyarlılık, antibiyotik toleransı, peynir suyunda yaşam, diğer suşlar ile uyumu gibi özellikler dikkate alınmaktadır. Bu testlerden sonra mezofil peynir kültüründe yer alıp alamayacağına karar verilmektedir. Uygun suşlar İzmir Tulum Peynir kültürüne destek olarak kullanılmıştır.

### **3.2.5 Probiyotik *Enterococcus* ssp. kullanılarak İzmir Tulum Peynirlerinin üretimi ve özelliklerinin belirlenmesi**

#### **3.2.5.1 Starter kültürün hazırlanması**

Liyofilize kültürden işletme kültürü eldesinde süt tozu (Pınar Süt A.Ş.) ile hazırlanan % 12 yağsız kurumaddeli süt kullanılmıştır. Hazırlanan süt 110°C'de 15 dakika sterilize edilmiş ve soğutulmuştur. İçersine aseptik koşullarda starter kültür ilave edilerek aşılınmış ve 30°C'de pH'sı yaklaşık 4,5 – 4,6'ya düşüncüye kadar bekletilmiştir. Daha sonra soğuk hava deposunda 4 - 6°C'de muhafaza edilmiş ve toplam işletme kültüründe % 0, 5, 10, 20 oranında (seçilen suşlarının 1:1:1:1 oranında karışımı) probiyotik *Enterococcus* ssp. olacak şekilde hazırlanmış ve üretimde tekne sütüne % 0,5 oranında kullanılmıştır.

#### **3.2.5.2 Starter kültür kompozisyon analizi**

Hazırlanan işletme kültürlerinde *Lactococcus* ssp. (Terzaghi and Sandine, 1975), *Enterococcus* ssp. (Gardinar et al., 1999a), Maya-Küf (Harrigan, 1998) ve toplam koliform (Anonim, 2005) analizleri gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.5.3 Süte ilave edilecek peynir mayası miktarının hesaplanması**

Süte ilave edilecek peynir mayası miktarı Üçüncü (2004)'ye göre hesaplanmıştır. Hesaplama pıhtı oluşum süresi 75 dakika alınmış ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Maya miktarı (mL)} = (\text{A} \times \text{B} \times \text{C}) / (\text{D} \times \text{E})$$

A: Deneyde kullanılan maya miktarı (ml)

B: Teknedeki süt miktarı (L)

C: Deneyde kullanılan sütün pıhtılaşma süresi (s)

D: Deneyde kullanılan süt miktarı (ml)

E: Teknedeki sütte istenen pıhtı oluşum süresi (s)

### 3.2.6 Peynir üretimi

Peynirlerin üretimi Şemsi Egi Gıda Ürünleri Ltd. Şti.'de, işletmede bulunan alet ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tenekelere doldurulan peynir örnekleri analiz günlerinde alınarak vakum altında ambalajlanarak depolanmıştır. Olgunlaşma dönemi süresince 1., 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. günlerde tesadüfi olarak seçilen peynirlerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, yapısal ve duyu analizleri yapılmıştır. İzmir Tulum Peyniri üretimi aşamalarının bazıları Resim 3.1, Resim 3.2, Resim 3.3. ve Resim 3.4'de verilmiştir.



Resim 3.1 Çiğ sütün çift cidarlı ısıtıcılarda pastörizasyonu



Resim 3.2 Starter kültür ve peynir mayası ekleme



Resim 3.3 Telemenin işlenmesi



Resim 3.4 Telemenin baskıya alınması

**Çiğ Süt Alımı:** Üretimde kullanılacak sütün kurumadde, yağ, asitlik, pH, protein analizleri yapılmıştır.

**Pastörizasyon:** İzmir Tulum Peyniri'ne işlenecek süt süzme işlemini takiben pastörizatörde 68°C'de 10 dakika pastörize edilmiştir.

**Mayalama Sıcaklığına Soğutma:** Pastörizasyon işlemi tamamlanan süt hızla 35°C'ye soğutulmuştur.

**Tekneye Alma:** Pastörize edilmiş ve soğutulmuş süt peynir teknesine alınmıştır.

**Starter Kültür İlavesi:** Araştırmada farklı oranlarda beyaz peynir ve probiyotik *Enterococcus* ssp. kültürü içeren işletme kültüründen % 0,5 oranında aşılama gerçekleştirilmiştir.

**CaCl<sub>2</sub> İlavesi:** Kalsiyum klorür oranı % 0,02 olacak şekilde ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır.

**Ön Olgunlaştırma:** Ön olgunlaştırma süresi (35°C) 30 dakika olarak ayarlanmıştır.

**Mayalama:** Pıhtı kırma süresi 45 dakika olacak şekilde hesaplanan peynir mayası 1:9 oranında suyla seyreltilerek süte ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır.

**Pıhtılaştırma:** Süt peynir teknesinde 45 dakika süreyle pıhtılaşmaya bırakılmıştır.

**Pıhtı Kesim Olgunluğunun Belirlenmesi:** Temiz bir bıçak yardımıyla pıhtının kolay ayrılıp ayrılmadığı kontrol edilerek, bulanık olmayan yeşilimsi-sarı renkte peynir suyunun oluştuğu tespit edilmiştir (Üçüncü, 1996).

**Telemenin Kesilmesi:** Kesim olgunluğuna gelen pıhtı enine ve boyuna olmak üzere 1'er cm genişliğindeki kesiciler yardımıyla kesilmiştir. Böylelikle 1 cm büyüklüğünde pıhtılar sağlanmıştır. Elde edilen pıhtılar el ile iyice parçalanmış ve pıhtıların mümkün olduğunda parçalanması sağlanmıştır.

**Kesim Sonrası Dinlendirme:** Kesim sonrası 15-20 dakika beklenecek peynir suyunun pıhtıdan ayrılması sağlanmıştır.

**Karıştırma:** Peynir suyu ve pıhtı iyice karıştırılmıştır.



**Peynir Suyunun Ayrılması ve Baskıya Alma:** Hafif sulu kalacak şekilde peynir suyu ayrılan telemelerin üzerine ağırlık yerleştirilerek baskıya alınmıştır.

**Peynirin Kalıp Halinde Kesilmesi:** Baskı üzerinden alınan peynirler eşit büyüklükte kalıplar şeklinde kesilmiştir. Kesilen kalıplar kuru tuzlama yapılarak 2 gün bekletilerek pH'nın 5,2'ye düşmesi sağlanmıştır.

**Tenekelere Yerleştirme ve Dolum Salamurası İlavesi:** Süre sonunda peynir kalıpları tenekelere dizilerek üzerine % 10'luk salamura ilave edilerek kapatılmıştır. Kapatılan tenekeler analiz günlerinde açılarak peynir kalıpları vakum altında ayrı partiler halinde ambalajlanmıştır.

**Depolama:** Peynirler E.Ü. Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Pilot İşletmesinde bulunan soğuk hava deposunda depolanmıştır. Peynir örneklerinin üretimini takiben 1., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir.

### 3.2.7 Örnek alma

Peynire işlenen çiğ süt örneği soğuk zincir korunarak laboratuvara getirilmiş 40°C'ye ısıtılıp, karıştırılarak 20°C'ye soğutulurak homejenize edilmiş, "Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş Sütler Tebliği"ne göre değerlendirilmiştir. İzmir Tulum Peynir'lerinde yapılacak analizler için örnekler TS-11966 İzmir Tulum Peyniri (Salamura Tulum Peyniri) Standardına uygun olarak alınmış ve değerlendirilmiştir. Protein analizi için ayrılan örnekler -20°C'de dondurularak depolanmıştır.

### 3.2.8 İzmir Tulum Peynirine işlenen çiğ ve ısıl işlem uygulanmış sütlerde yapılan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler

#### 3.2.8.1 Kurumadde

Çiğ ve ısıl işlem görmüş sütlerde kurumadde gravimetrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (Oysun, 1996).

### **3.2.8.2 pH**

pH ölçümlerinde elektrotlu dijital pH-metreden (HANNA Instruments pH211, Portugal) yararlanılmıştır (Kosikowski, 1982).

### **3.2.8.3 Yağ**

Sütlerde yağ içerikleri Gerber yöntemiyle tespit edilmiştir (Kurt vd., 2007).

### **3.2.8.4 Titrasyon asitliği**

Sütlerde titrasyon asitliği titrasyon yöntemi kullanılarak, Soxhlet-Henkel metoduyla belirlenmiştir (A.O.A.C., 1990).

### **3.2.8.5 Toplam azot (TN) ve protein**

Çiğ inek sütlerinde toplam azot için örnek hazırlama Rowland (1938)'a göre yapılmıştır. Buna göre 100 ml'lik ölçü balonuna 5 ml süt tartılarak aktarıldıktan sonra, hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak iyice karıştırılmıştır. Seyreltilmiş süttten 20 ml kjeldahl tüplerine alınarak, mikro kjeldahl yöntemiyle sütlerde toplam azot belirlenmiştir. Böylelikle 1ml süt örneği alınmış olmuştur. Toplam azot içeriği 6,38 katsayısı ile çarpılarak protein içeriği hesaplanmıştır (Anonymous, 1993).

### **3.2.8.6 Mikrobiyolojik analizler**

Çiğ ve ısıtılmış sütlerde *Lactobacillus* ssp. sayımı De Man et al. (1960)'e, *Lactococcus* ssp. sayımı Terzaghi and Sandine (1975)'e, *Enterococcus* ssp. sayımı Gardiner (1999)'a göre gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.9 Peyniraltı sularında yapılan analizler**

Peynir yapımı sırasında açığa çıkan peyniraltı sularından homojen halde alınan örnekler steril besiyeri şişelerine alınmış, soğutulularak analiz için laboratuvara getirilmiştir. Peyniraltı sularının fiziko-kimyasal analizleri Anonim (1991) ve Rowland (1938), 'e göre gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.10 İzmir Tulum Peyniri Örneklerinde Fiziksel ve Kimyasal Analizler**

#### **3.2.10.1 Kurumadde**

Peynir örneklerinde kurumadde gravimetrik yöntemle Oysun (1996)'ya göre gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.10.2 Yağ ve kurumaddede yağ**

Peynir örneklerinde yağ oranı Gerber yöntemi ile E.Ü. Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nde belirlenmiştir (Kurt vd., 2007). Kurumaddedeki yağ, peynirlerin kurumaddeleri dikkate alınarak orantı yoluyla hesaplanmıştır.

#### **3.2.10.3 Tuz ve kurumaddede tuz**

Peynirlerin tuz oranı titrasyon yöntemiyle E.Ü. Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nde belirlenmiştir. Kurumaddede tuz miktarı peynirlerin kurumaddeleri dikkate alınarak orantı yoluyla hesaplanmıştır (Kurt vd., 2007).

#### **3.2.10.4 pH değeri**

Peynirlerin pH ölçümlerinde elektrotlu dijital pH-metreden (HANNA Instruments pH211, Portugal) yararlanılmıştır (Kosikowski, 1982).

#### **3.2.10.5 Titrasyon asitliği / % Laktik asit değeri**

Peynirlerin titrasyon asitlikleri TS-11966 Salamuralı Tulum Peyniri Standardı'nda belirtilen yöntem ile E.Ü. Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nde belirlenmiştir (Anonim, 2006a).

#### **3.2.10.6 Toplam azot (TN) ve protein**

Peynirlerdeki toplam azot ve protein miktarları İzmir İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde bulunan tam otomatik nitrojen ve protein ölçüm cihazı Leco FP-528 (USA) kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 2.1). Azot miktarı 6,38 katsayısı ile çarpılarak protein oranı belirlenmiştir (Renner, 1993).



Resim 3.5 Protein tayin cihazı (Leco FP 528)

Analiz edilecek peynir örneği aliminyum içerisine tartılarak cihaz haznesine yerleştirilmiş ve yakma işlemini tamamladıktan sonra azot ve protein değerleri % olarak okunmuştur.

### **3.2.10.7 Suda çözünen azot (WSN)**

Gripon et al (1975)'e göre hazırlanan örneğin 150 ml'si ölçü silindiri yardımıyla 400 ml'lik bir behere alınmıştır. Çözeltinin pH'sı 1 N HCl ile 4.40'a ayarlanmış, 200 ml'lik ölçü balonuna aktararak elektrot ve beher iyice yıkanarak

hacim 200 ml'ye tamamlanmıştır. Whatman No:42 filtre kağıdı ile 2 defa filtre edilerek stok örnekler hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanan stok örnekten 5 ml (0.1875 g peynir) alınarak analize alınmıştır. Yöntemdeki farklılık peynirde suda çözünen azot saptanmasında 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmış ve yakma aşamasında berraklaştıktan sonra 5 dakika daha aynı sıcaklıkta tutulmuştur (Anonymous, 1980).

### **3.2.10.8 Olgunlaşma indeksi**

Peynir örneklerinin olgunlaşma indeksleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Venema et al., 1987).

$$\text{Olgunlaşma İndeksi} = \frac{\text{WSN}}{\text{TN}} \times 100$$

### **3.2.10.9 Serbest yağ asitleri değeri**

Serbest yağ asidi miktarını gösteren asit değeri Renner (1993)'e göre belirlenmiştir. Sonuç, oleik asit olarak değil harcanan KOH' in eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Peynirlerin yağ oranı dikkate alınarak 8-10 g arasında yağ elde edilecek şekilde tartılan peynir örnekleri havana aktarılarak, üzerine kselgur eklenmiştir. Havan tokmağı yardımıyla yağ globül membranının parçalanması sağlanarak karışımın yağ oranı artırılmıştır. Daha sonra saf dietil eter yardımıyla üç kez yıkanarak yağ ekstraksiyonu sağlanmış, ekstrat kaba filtre kağıdından süzülerek eter-yag karışımı elde edilmiş ve rotari evaporatörde 45 °C'de eter uzaklaştırılarak saf yağ alınmıştır. Yağ 45 °C'lik su banyosunda eter kokusu tamamen yok olana kadar bekletilmiştir. Tartılan 4 g yağ örneği üzerine 40 ml alkol-eter karışımı (1: 1) ilave edilerek, alkolde hazırlanmış 0.1 N KOH ile % 1'lik fenolfitalein yardımı ile titre edilmiştir. Sonuç aşağıda formül kullanılarak hesaplanmıştır (Renner, 1993).

$$V \text{ (ml)} \times N \times 56.11$$

$$\text{Asit değeri (mg KOH/g yağ)} = \frac{\text{-----}}{M}$$

Formülde;

V: Titrasyonda harcanan KOH miktarı (ml)

N: Titrasyonda kullanılan KOH'in gerçek normalitesi

M: Örnek (yağ) miktarı (g)

### **3.2.11. İzmir Tulum Peyniri örneklerinde mikrobiyolojik analizler**

#### **3.2.11.1 Dilüsyon sıvılarının hazırlanması**

Aseptik koşullarda 10 g peynir örneği, steril stomacher poşetine tartılmış ve üzerine 90 ml %0.1'lik steril peptonlu su solüsyonu ilave edilmiştir. Colworth Stomacher 400 (Seward Laboratory, U.K.) marka stomacker kullanılarak iki dakika süreyle homojenize edilmiş ve 1ml alınarak 9ml'lik peptonlu su solüsyonuna (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ilave edilerek karıştırılmıştır. Bir önceki dilüsyonlardan 1 ml alınarak dilüsyon serileri hazırlanmıştır (Bracquart 1981).

#### **3.2.11.2 Besiyerlerinin hazırlanması**

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak besiyeri ve dilüsyon sıvıları hazırlanıp pH seviyeleri ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

#### **3.2.11.3 Kültür bakterilerinin sayımı**

Peynir örneklerindeki laktobasillerin sayımında MRS agar (Merck, 1.10660) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan paralel ekimi gerçekleştirilen petri kapları 37°C'de 72 saat anaerobik ortam yaratılarak inkübasyona bırakılmıştır.

Anaerobik ortam sağlamak için anaerobik jar ve kit (Anaerocult A) (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır (Dave and Shah, 1998).

Peynir üretiminde kullanılan laktokokların sayımında M-17 Agar (Merck, 1.15108) kullanılmıştır. 37°C’de 48 saat inkübasyon sonrasında sayım gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.11.4 Enterococcus ssp. sayımı**

Peynirlerin *Enterococcus* ssp. sayımında Kanamycin Esculin Azide Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrasında meydana gelen siyah-koyu gri kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2005).

#### **3.2.11.5 Maya-küf sayımı**

Peynir örneklerindeki maya-küf içerikleri YGCA (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar) besiyeri (Merck, 1.16000) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 25°C’de 3 gün inkübasyon sonunda gelişen mayalar ve 5. gün sonunda gelişen küfler sayılmış ve toplam maya-küf sonucu olarak değerlendirilmiştir (Anonim, 2005).

#### **3.2.12. Randıman**

Randıman; peynir miktarı ve süt miktarını esas alan Hinrichs (2001)’e göre aşağıdaki formül dikkate alınarak hesaplanmıştır:

$$\text{Randıman} = \frac{\text{Peynir Miktarı (Kg)}}{\text{Süt Miktarı (L)}} \times 100$$

#### **3.2.13. Duyusal değerlendirme**

Peynirlerin duyusal değerlendirmesinde TS-11966 Salamura Tulum Peyniri Standardında yer alan puanlama testi kullanılmıştır Puanlama testi Ege Üniversitesi Süt Teknolojisi Bölümü öğretim üyeleri tarafından gerçekleştirilmiştir. İzmir Tulum peynirlerinin duyusal değerlendirmesinde kullanılan puanlama testi Ek-5 ve Ek-6’da verilmiştir.

### **3.2.14. İstatiksel analiz metotları**

Üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin özellikleri arasındaki farkı ve depolama süresinin etkilerini belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way Anova) uygulanmıştır. Bu amaçla SPSS versiyon 15.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois) istatistik analiz paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi sonucunda önemli olan veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  düzeyinde test edilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Laktik Asit Bakterilerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Tanılama Sonuçları

Yapılan Gram boyama, katalaz testi ve morfolojik incelemeler sonucunda Gram pozitif, katalaz negatif ve kok görünümündeki toplam 167 izolat çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal testlere alınmıştır. İzolasyonda kullanılan çiğ süt ve geleneksel süt ürünleri kodları ile birlikte Çizelge 4.1.'de verilmiştir. İzolasyonda ilk kod izolasyon materyalini (Kx), ikinci kod ise izolat numarasını (Ex) vermektedir.

Çizelge 4.1 İzole edilen *Enterococcus* türlerinin izolat kodları ve izole edildiği kaynaklar

<b>İzolat Kodları</b>	<b>İzole edildiği kaynak</b>
K1, K2, K3, K5, K7, K8, K11, K12, K13, K15, K16, K17, K65, K73, K74, K75, K78, K79	İzmir Tulum Peyniri
K60, K69, K70, K71	Çiğ süt
K18, K63, K76	Köy Peyniri
K67, K80	Beyaz Peynir
K51, K62	Tereyağı
K40	Armola
K41	Tire Çamur Peyniri
K50	Kefir tanesi
K61	Sıvı kefir
K64	Lor peyniri
K66	Otlu peynir
K68	Ezine Peyniri
K72	Çeçil peyniri
K77	Keçi peyniri

Tereyağı, kefir, otlu peynir gibi örnekler geleneksel yolla üretilen ürünler arasından seçilmiştir.

Biyokimyasal testler sonucunda oluşan reaksiyon sonuçları (Ek-4) Ek-5'deki tanılama şemasından yararlanılarak tanılanmıştır. Şeker fermentasyonlarının Fenol Red Broth ve *Streptococcus* Broth'ta verdiği reaksiyon sonuçlarına ait görüntüler Resim 4.1 ve Resim 4.2'de verilmiştir. Yapılan karşılaştırma ve değerlendirme sonucunda 122 izolatın *E. faecium* (% 73.05), 18 izolatın *E. durans* (% 10.78), 17 izolatın *E. faecalis* (% 10.18), 8 izolatın *E. faecalis* var. (% 4.79), 2 izolatın ise *E. hirae* (% 1.19) olduğu belirlenmiştir. İzolasyonu yapılan bakterilerin kaynakları Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Resim 4.1 Fenol Red Broth'ta şeker fermentasyon testlerinin değerlendirilmesi

Sarı renk: pozitif, Kırmızı renk: negatif



Resim 4.2 *Streptococcus* Broth'ta şeker fermentasyon testlerinin değerlendirilmesi  
Sarı renk: pozitif, Yeşil renk: negatif

*Enterococcus* türlerinin ayırımında başta sorbitol, arabinoz, mannitol ve rafinoz gibi şekerler ile farklı sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarındaki değişimler esas alınmıştır. Söz konusu şekerler *E. faecium*, *E. durans* ve *E. hirae* türlerinin ayırımında kritik şekerler olduğu bildirilmektedir. Bu şekerlerin yanında trehaloz, laktoz, fruktoz, galaktoz, maltoz, mellobiyoz, salisin, sakkaroz ve inulin gibi şekerler kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyon testleri kesin tanılama yapılmasında yardımcı olmuştur (Franz et al., 2003, Teixeira et al., 2007).

Bazı kaynaklarda *E. durans* ile *E. faecium*'un aynı tür olarak bildirilmektedir (Yaygın ve Kılıç, 1993; Kılıç, 2001). Devriese and Pot (1995), *Enterococcus durans*'ı *Ent. faecium*, *Ent. durans*, *Ent. hirae* ve *Ent. mundtii*'den oluşan *Enterococcus faecium* türleri grubu içinde vermişlerdir. Son yıllarda yapılan tanılama çalışmalarında ise *Enterococcus durans* ve *Enterococcus faecium*'dan ayrı iki tür olarak bahsedilmektedir (López-Díaz et al., 2000; Bulut vd., 2005; Cheriguene et al., 2007).

Biyokimyasal testler tamamen bakterilerin fizyolojik özelliklerine ve besin gereksinimlerine dayalı tanılama yöntemleridir. Bakteriler farklı çevre koşullarında kendilerini ortam şartlarına uydurmaya çalışmaktadırlar. İzole edildikleri farklı ortam şartlarına uyum sağlamış bakteriler bazen bu testlerde bilinenin dışında reaksiyonlar vermektedirler. Bu durum bunların farklı bir tür olarak tanılanmasına veya tam olarak tanılanamamasına neden olmaktadır (Güley, 2008).

Ek-4'deki test sonuçları incelendiğinde pek çok araştırma ve literatürde *Enterococcus* türlerinin % 6.5 tuz konsantrasyonunda geliştiğini belirtirse de çalışmada elde edilen sonuçlarda en fazla % 4 tuz konsantrasyonunda gelişebilen suşların olabileceği görülmektedir. Benzer sonuçlar Güley (2008) tarafından da ortaya konmuştur.

Sadece referans *E. casseliflavus* inulin (+) reaksiyon verirken, *E. faecium* izolatlarından yalnızca 2 tanesi zayıf inulin reaksiyonu vermiştir. *E. faecium* izolatları melibiyoz, rafinoz ve sakkaroz açısından değişken reaksiyonlar vermiştir. Söz konusu şekerleri fermente etme yetenekleri suştan suşa değişkenlik göstermektedir. Bazı *E. faecium* suşları ise mannitol negatif reaksiyon verdiği için bakterilerin tanılanmasında hata yapıldığını düşündürmüştür, tekrar edilen kontrollerde aynı şekilde pozitif reaksiyon vermesi sonucunda ayrıntılı bir literatür taraması yapılarak bu türün *E. faecium*'un varyetesi olabileceği sonucuna varılmış ve tanısı *E. faecalis* var. olarak yapılmıştır (Garvie, 1984; Devriese and Pot, 1995; Teuber, 1995; Franz et al., 2003; Klein, 2003; Güley, 2008)

#### 4.2 Asidifikasyon Özellikleri

Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* türleri'nin asidifikasyon testi sonuçları Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde *Enterococcus* türlerinin farklı asidifikasyon sonuçları gösterdiği görülmektedir. Bazı türler yüksek asitlik meydana getirirken, bazı türler düşük asitlik göstermiştir. İzole edilen türler incelendiğinde 24 saatlik inkübasyon sonucunda *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının *E. durans* ve *E. hirae*'e göre daha yüksek asitlik meydana getirdiği, ancak bazı *E. faecium* suşlarının düşük asitlik

oluşturduğu ve *E. hirae* suşlarının bazı *E. faecium* suşlarından daha yüksek laktik asit meydana getirebildiği görülmektedir.

Çizelge 4.2 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-1 (pH olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	pH			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
Steril süt	-	6,70	6,70	6,70	6,70
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,64	6,30	5,43	4,85
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,54	5,29	4,72
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,27	5,68	5,44	4,77
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,60	5,38	4,77
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,40	5,77	5,44	4,82
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,37	5,91	5,68	5,05
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,40	5,95	5,70	5,12
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,31	5,90	5,72	5,08
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,84	5,71	5,14
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,36	5,67	5,48	4,86
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,20	5,53	5,28	4,75
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,20	5,56	5,32	4,75
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,21	5,35	4,96	4,41
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,23	5,84	5,25	4,76
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,23	5,15	4,85	4,40
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,11	5,60	5,25	4,62
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	6,07	5,64	5,31	4,70
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,08	5,72	5,42	4,80
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	5,93	5,60	4,60
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,56	6,49	6,27	4,65
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,51	5,98	5,89	4,70
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,44	5,92	5,65	4,90
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,50	6,06	5,58	4,83
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,45	5,98	5,54	4,81
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,39	6,01	5,58	4,80
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,41	5,87	5,37	4,65
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,38	5,93	5,20	4,62
K13E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,32	5,85	5,58	4,90
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,40	5,84	5,59	4,95
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,40	6,04	5,38	4,40
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,43	5,86	5,52	4,83
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,40	5,82	5,09	4,62
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	6,35	6,01	4,89
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,12	5,90	5,60	4,94
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,55	6,45	6,25	5,12
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	5,60	5,02	4,45
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	6,42	5,95	5,45	4,63
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,37	5,80	5,10	4,50
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	6,08	5,33	4,66
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,41	5,46	4,86	4,40
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,31	6,06	5,60	4,90

Çizelge 4.2 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-2 (pH olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	pH			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,40	6,12	5,62	4,52
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,30	5,92	5,79	5,09
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,46	6,03	5,19	4,65
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,57	6,36	5,45	4,16
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,55	6,45	5,80	4,23
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	6,38	6,30	6,20	5,38
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	6,28	5,75	5,38	4,74
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,35	6,15	6,01	4,85
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,35	5,79	5,40	4,70
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,34	5,84	5,40	6,68
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,50	6,40	6,20	4,97
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	6,32	5,72	5,31	4,61
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,43	6,32	6,12	4,94
K60E1	<i>Enterococcus durans</i>	6,38	5,80	5,50	4,60
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,52	6,30	6,15	4,27
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,33	5,83	5,43	4,76
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	6,38	5,90	5,52	4,62
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,47	6,25	6,05	4,26
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	6,44	6,34	6,31	5,32
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	6,31	5,83	5,60	4,61
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,83	5,68	4,85
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,55	6,48	6,40	5,01
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	6,52	6,47	6,30	4,78
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	6,49	6,38	5,47	4,65
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,31	5,78	5,57	4,60
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,17	5,83	5,65	4,56
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,33	5,88	5,73	4,74
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,85	5,71	5,05
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	6,39	5,94	5,71	5,01
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,35	5,89	5,62	4,82
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,28	5,46	5,14	4,53
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,25	5,78	5,57	4,86
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,31	5,92	5,64	5,05
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,28	5,99	5,68	4,82
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,23	5,71	5,32	4,55
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,41	5,94	5,56	4,81
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,57	6,51	5,81	4,75
K64E3	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,42	5,98	5,04	4,80
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,28	5,57	5,30	4,36
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,38	5,75	5,63	4,35
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,43	5,85	5,69	4,76
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,32	5,72	5,26	4,60
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,30	5,80	5,20	4,68
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,31	5,75	5,21	4,60
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,28	5,83	5,29	4,70

Çizelge 4.2 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-3 (pH olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	pH			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,30	5,96	5,68	4,63
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,35	5,90	5,30	4,73
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	6,33	5,76	5,58	4,96
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,34	5,83	5,59	4,65
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,27	5,50	5,05	4,55
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,28	5,76	5,41	4,71
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,34	5,78	5,39	4,83
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,29	6,14	5,08	4,14
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,30	5,97	5,63	4,86
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,14	5,30	4,74	4,20
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,32	5,72	5,26	4,60
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	6,25	5,75	4,72
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,09	5,53	5,14	4,47
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,25	5,59	5,18	4,54
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,20	5,81	5,28	4,43
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,03	5,65	5,43	4,58
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,05	5,45	5,13	4,46
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	5,97	4,99	4,68	4,10
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,08	5,43	5,15	4,46
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,26	5,83	5,48	4,80
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,09	5,65	5,18	4,43
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,43	4,99	4,45	4,13
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,22	5,57	5,50	4,86
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,13	5,83	5,60	4,79
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,19	5,61	5,27	4,56
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,22	5,86	5,72	5,09
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,46	6,28	6,26	5,95
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,20	5,91	5,66	4,51
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,1	5,42	5,14	4,71
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	6,13	5,43	4,34	4,74
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,01	5,31	5,05	4,65
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,08	5,38	5,14	4,77
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,09	5,36	4,72	4,17
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	5,95	5,24	5,01	4,67
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	5,8	5,37	4,96	4,27
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,06	5,35	5,09	4,78
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,05	5,38	5,1	4,78
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,04	5,32	5,06	4,75
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,15	5,39	5,09	4,68
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,12	5,82	5,09	4,97
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	5,97	5,65	5,52	4,56
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,14	5,31	5,47	4,45
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,18	5,57	5,01	4,49
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,21	5,69	5,04	4,69

Çizelge 4.2. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-4 (pH olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	pH			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,30	5,24	4,90	4,41
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	5,83	4,74	4,52	4,04
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,06	5,63	5,55	4,97
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,21	5,59	5,40	4,70
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,15	5,82	5,72	4,40
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,42	5,82	5,36	4,68
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,46	5,67	5,20	4,58
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	6,17	5,85	4,58	4,06
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,35	5,75	5,32	4,65
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,17	5,02	4,58	4,11
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,27	5,78	5,57	5,09
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,11	5,68	5,45	4,40
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,52	6,46	5,95	5,05
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,17	5,70	5,45	4,92
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,09	5,67	5,43	4,93
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,13	5,69	5,05	4,42
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,38	6,32	5,09	4,89
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,16	5,69	5,49	4,95
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,15	5,79	5,43	4,86
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,11	5,82	5,56	5,01
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,10	5,68	5,44	4,88
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,12	5,75	5,56	4,65
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,10	5,63	4,80	4,37
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	6,14	5,85	5,74	4,51
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	6,22	5,69	5,1	4,41
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,14	5,62	5,46	4,85
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,18	5,68	5,27	4,59
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,49	6,45	6,05	4,33
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	6,10	5,80	5,65	4,52
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	6,11	5,79	5,5	4,68
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	6,12	5,76	5,40	4,74
K79E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,23	5,67	5,27	4,58
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	6,25	5,70	5,37	4,64
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,22	5,81	5,46	4,60
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	6,29	5,85	5,47	4,78
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,24	5,52	5,31	4,48
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	6,29	5,76	5,28	4,70
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	6,27	6,06	5,88	4,64
K80E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,14	5,64	5,33	4,81
K80E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	6,19	5,76	5,48	4,80
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	6,42	6,12	5,85	5,08
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	6,36	6,12	5,96	5,46
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	6,33	6,05	5,92	5,48



*E. faecium* suşlarının % 10 yağsız tozu içeren besiyeri ortamında 3. saatte pH değerleri 5,80 – 6,64 arasında değişmiş, meydana gelen laktik asit (LA) miktarı en düşük (% 0,108) K69E2 suşunda belirlenirken, en yüksek (% 0,468) K80E4 suşunda belirlenmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda ise pH değerleri 4.10 – 5.12 arasında değişmiş, en düşük laktik asit miktarı % 0,230 ile K1E1 suşunda belirlenirken, en yüksek % 0,932 ile K5E2 suşunda belirlenmiştir.

*E. durans* suşlarının 3. Saat pH değerleri 6,07 – 6,55 arasında değişmiş, meydana gelen laktik asit miktarı en düşük % 0.120 LA miktarı ile K63E1 suşunda belirlenirken, en yüksek % 0,245 LA K7E2 suşunda saptanmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonunda ise pH değerleri 4.06 – 5.38 arasında değişmiş, en düşük LA miktarı % 0,239 ile K40E4 suşunda belirlenirken, en yüksek % 0.859 ile K75E1 suşunda belirlenmiştir.

*E. faecalis* suşlarının 3. Saat pH düşürme özelliklerine bakıldığında değerlerin 6,12 – 6,57 arasında değiştiği, meydana gelen laktik asit miktarının en düşük % 0,118 laktik asit miktarı ile K41E2 suşunda, en yüksek % 0.216 laktik asit K5E1 suşunda belirlendiği görülmektedir. 24 saatlik inkübasyon sonunda ise pH değerleri 4.16 – 4.94 arasında değişmiş, en düşük laktik asit miktarı % 0.315 ile K64E2 suşunda belirlenirken, en yüksek % 0,990 ile K5E1 suşunda olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-1 (% LA olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	% Laktik Asit			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
Steril Süt	-	0,135	0,135	0,135	0,135
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,176	0,369	0,432	0,754
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,198	0,410	0,486	0,826
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,194	0,349	0,430	0,835
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,195	0,392	0,446	0,833
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,347	0,451	0,826
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,172	0,311	0,347	0,626
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,168	0,275	0,361	0,665
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,198	0,324	0,351	0,585
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,234	0,338	0,344	0,532
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,185	0,369	0,450	0,660
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,212	0,378	0,513	0,799
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,207	0,419	0,475	0,783
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,229	0,468	0,625	0,932

Çizelge 4.3 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-2 (% LA olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	% Laktik Asit			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,230	0,392	0,513	0,754
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,216	0,518	0,711	0,990
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,261	0,390	0,445	0,752
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	0,245	0,387	0,482	0,693
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,212	0,352	0,471	0,686
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,181	0,284	0,347	0,832
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,158	0,175	0,185	0,704
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,135	0,225	0,458	0,658
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,132	0,221	0,285	0,441
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,132	0,185	0,288	0,553
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,140	0,216	0,310	0,508
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,131	0,219	0,297	0,479
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,140	0,239	0,351	0,587
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,132	0,222	0,468	0,702
K13E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	0,139	0,248	0,306	0,430
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,229	0,311	0,486
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,133	0,216	0,356	0,745
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,129	0,221	0,309	0,451
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,139	0,275	0,536	0,873
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,121	0,127	0,369
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,158	0,221	0,292	0,474
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,117	0,225	0,458	0,689
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,130	0,243	0,482	0,859
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	0,139	0,210	0,345	0,504
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,144	0,240	0,426	0,763
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,130	0,189	0,396	0,788
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,130	0,342	0,542	0,707
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,129	0,194	0,248	0,475
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,131	0,196	0,287	0,751
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,132	0,211	0,477	0,776
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,126	0,151	0,374	0,743
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,125	0,135	0,225	0,365
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	0,121	0,141	0,151	0,239
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	0,132	0,235	0,317	0,495
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,118	0,122	0,220	0,356
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,144	0,239	0,310	0,522
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,158	0,224	0,309	0,513
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,137	0,149	0,156	0,230
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	0,153	0,243	0,342	0,576
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,126	0,135	0,217	0,693
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,132	0,171	0,232	0,811
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,153	0,257	0,481
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,216	0,252	0,639
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	0,172	0,203	0,205	0,490
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	0,147	0,216	0,270	0,414

Çizelge 4.3 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-3 (% LA olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	% Laktik Asit			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,151	0,212	0,225	0,412
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,135	0,151	0,172	0,515
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,167	0,214	0,302	0,477
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	0,140	0,225	0,268	0,527
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	0,140	0,225	0,268	0,527
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,181	0,225	0,254	0,405
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,122	0,198	0,213	0,351
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	0,135	0,141	0,167	0,468
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	0,124	0,141	0,211	0,698
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,158	0,217	0,243	0,540
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,164	0,215	0,244	0,421
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	0,120	0,176	0,203	0,351
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,126	0,198	0,227	0,422
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,240	0,299	0,501
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,131	0,186	0,230	0,423
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,113	0,189	0,229	0,410
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,124	0,169	0,225	0,428
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,139	0,213	0,270	0,423
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,151	0,213	0,275	0,338
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,119	0,133	0,219	0,315
K64E3	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	0,144	0,207	0,257	0,469
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,162	0,268	0,352	0,559
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,144	0,247	0,361	0,495
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,149	0,213	0,279	0,491
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,211	0,297	0,495
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,140	0,185	0,225	0,635
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,132	0,212	0,311	0,497
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,117	0,215	0,297	0,462
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,137	0,203	0,315	0,464
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,139	0,221	0,378	0,525
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,198	0,225	0,545
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,144	0,257	0,356	0,612
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,149	0,216	0,275	0,587
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,225	0,284	0,428
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,122	0,135	0,356	0,765
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,122	0,187	0,225	0,437
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,149	0,319	0,428	0,752
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,125	0,195	0,252	0,456
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,126	0,198	0,225	0,658
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,153	0,244	0,333	0,552
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,122	0,207	0,261	0,455
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,162	0,205	0,333	0,559
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,108	0,409	0,626	0,788
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,137	0,184	0,234	0,560
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	0,189	0,356	0,374	0,650

Çizelge 4.3 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları-4 (% LA olarak)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	% Laktik Asit			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
ATCC29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,169	0,212	0,225	0,321
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,128	0,248	0,324	0,554
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,133	0,171	0,315	0,644
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,207	0,270	0,401
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,158	0,250	0,360	0,527
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,162	0,360	0,468	0,720
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,168	0,297	0,357	0,572
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,126	0,228	0,257	0,455
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,203	0,234	0,470
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,133	0,284	0,302	0,536
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	0,129	0,185	0,207	0,396
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,162	0,292	0,356	0,502
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	0,160	0,259	0,293	0,436
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,149	0,288	0,349	0,481
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,302	0,369	0,406
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,167	0,297	0,477	0,799
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,186	0,333	0,410	0,549
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,167	0,297	0,408	0,681
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,176	0,612	0,405	0,477
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,295	0,373	0,437
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,175	0,315	0,351	0,401
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,180	0,210	0,270	0,621
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,146	0,194	0,243	0,545
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,144	0,270	0,339	0,402
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,142	0,212	0,486	0,653
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,225	0,579	0,658
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,225	0,358	0,698
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	0,170	0,234	0,592	0,890
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,144	0,297	0,398	0,535
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,222	0,367	0,542
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,165	0,333	0,277	0,531
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	0,171	0,455	0,531	0,859
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,212	0,239	0,328	0,486
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,175	0,220	0,325	0,458
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,135	0,216	0,344	0,569
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,158	0,219	0,293	0,414
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,156	0,234	0,293	0,554
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,114	0,117	0,288	0,384
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,612	0,230	0,308	0,496
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,185	0,286	0,221	0,412
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	0,168	0,215	0,284	0,396
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,165	0,227	0,275	0,428
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,169	0,227	0,386	0,702
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,166	0,225	0,260	0,455
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,175	0,234	0,302	0,479

Çizelge 4.3 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların asidifikasyon testi sonuçları - 5 (% LA olarak)

İzolot No	Fenotipik Tanımlama	% Laktik Asit			
		3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,165	0,220	0,251	0,538
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,151	0,419	0,518	0,828
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,124	0,135	0,168	0,428
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,164	0,239	0,168	0,428
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,155	0,221	0,239	0,418
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,153	0,219	0,261	0,479
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,162	0,225	0,230	0,504
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,117	0,212	0,254	0,738
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,225	0,238	0,554
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,158	0,207	0,235	0,707
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,171	0,203	0,221	0,654
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,156	0,256	0,356	0,608
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,161	0,227	0,284	0,477
K79E2	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	0,144	0,243	0,319	0,504
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,122	0,225	0,289	0,432
K79E4	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	0,135	0,227	0,265	0,572
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	0,136	0,199	0,288	0,434
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,145	0,293	0,464	0,734
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,168	0,248	0,311	0,414
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,126	0,167	0,205	0,558
K80E4	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	0,168	0,248	0,477	0,520
K80E5	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	0,144	0,216	0,302	0,396
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	0,135	0,167	0,185	0,419
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	0,137	0,171	0,204	0,308
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	0,140	0,176	0,216	0,310

İzole edilen 2 adet *E. hirae* suşunun 3. saat pH değeri K17E2 suşunda 6,42, K73E5 suşunda ise 5,82 olarak belirlenmiştir. İzolatların meydana getirdikleri laktik asit miktarı ise K17E2 suşunda % 0,139, K73E5 suşunda % 0,170 olarak belirlenmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda ise 3. saatte olduğu gibi K17E2 suşunda daha yüksek (5,95), K73E5 suşunda ise daha düşük (4,74) olduğu görülmektedir. İlgili çizelgeden de görüldüğü gibi % laktik asit miktarları ise bu suşlarda % 0,504 ve % 0,890 olarak saptanmıştır.

Asidifikasyon peynir üretiminde kullanılacak starter kültürlerin seçiminde önemli bir kriterdir. Tuncer (2009) Tulum Peyniri'nden izole ettiği enterokok türlerinden *E. faecium* suşlarının *E. faecalis* ve *E. durans*'a göre daha yüksek asidifikasyon gösterdiğini belirlemiştir. Buna karşın bazı *E. faecalis* suşlarının da

*E. faecium* ve *E. durans*'a göre daha yüksek asidifikasyon gücüne sahip olduğu Dağdemir and Özdemir (2008), Suzzi et al. (2000) gibi bazı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur.

Abeijón et al. (2006) koyun sütünden üretilen geleneksel Arjantin peynirlerinden 8 adet *E. faecium* izole etmiş ve asidifikasyon kabiliyetlerini incelemiştir. Suşların pH değerleri 6 saatlik inkübasyon sonunda 5.48-6.02 arasında, 24 saat inkübasyon sonrası 4.51-5.35 arasında değişim göstermiştir. % laktik asit miktarları ise 6 saat inkübasyon sonrası 0,10-0,15, 24 saat inkübasyon sonrasında 0,16-0,28 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır.

Hassaïne et al. (2008) çiğ süt örneklerinden izole ettiği 3 adet *E. faecium*, 3 adet *E. faecalis* ve 1 adet *E. durans* suşunun 30°C'de 24 saat inkübasyon sonunda pH'yı 5,0 altına düşürmediğini belirlemişler ve zayıf asidifikasyon gösterdikleri sonucuna varmışlardır.

Morandi et al. (2006) Kuzeybatı İtalya bölgesi süt ürünlerinden izole ettiği 68 adet enterokok türünün asidifikasyon yeteneğinin düşük olduğunu, (35 *E. faecalis*, 27 *E. faecium* ve 6 *E. durans*) *E. faecium* suşlarının büyük kısmının sütte 6 saat inkübasyonu sonrasında 0.25 g/100mL'den daha az laktik asit meydana getirdiğini, 4 suşun 0.30g/100mL'den, 1 suşun ise 0.41g/100mL'den daha fazla laktik asit meydana getirdiğini saptamışlardır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise *E. faecium* suşlarının, *E. faecalis*'e göre laktozu daha iyi metabolize ederek daha yüksek oranda laktik asit meydana getirdiği belirlenmiştir.

Söz konusu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi *Enterococcus* türlerinin asidifikasyon kabiliyetleri izole edildiği kaynak, tür ve suşa göre değişkenlik gösterebilmektedir. Çalışmamızda izole edilen *Enterococcus* türlerinin farklı asidifiasyon kabiliyetinde olduğu ortaya konmuştur.

### **4.3 Ekzopolisakkarit (EPS) Üretim Özellikleri**

Bazı kültürler yapışkan, lizuci maddeler oluşturabilmektedir. Bakterilerin bu özelliği mutasyonla, yani organizmada oluşan kalıcı karakter ve yapı değişimi ile ortaya çıkmaktadır. Bazen de bu maddelerin üretimini arttıran gelişme koşulları olmaktadır. Bu koşullar çok yüksek veya çok düşük gelişme sıcaklığı,

kültürün gelişme ortamındaki besin maddelerinin eksikliği, karışık kültürlerdeki suşların birbirinden ayrılması, yüksek pH ve liyofilizasyon şeklinde sıralanabilir (Yaygın ve Kılıç, 1993).

*Enterococcus* tür ve suşlarının ekzopolisakkerit (EPS) üretim testi sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde 19 suşun EPS üretme yeteneğinde olduğu, 9 tanesinin ise zayıf EPS üretimi gösterdiği görülmektedir. EPS üreten *Enterococcus* tür ve suşların dağılımı irdelendiğinde ise 15 adet *E. faecium*, 2 adet *E. durans* ve 2 adet *E. faecalis var.* şeklinde olmuştur. Hiçbir *E. faecalis* suşu ise EPS üretimi gerçekleştirmemiştir. Zayıf EPS üretim yeteneğinde olan tür ve suşların dağılımı ise 6 adet *E. faecium*, 1 adet *E. durans* ve 2 adet *E. faecalis* şeklinde olmuştur.

Çizelge 4.4 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların ekzopolisakkerit (EPS) üretimi sonuçları - 1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Ekzopolisakkerit (EPS) Üretimi
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-

+ : EPS oluşumu pozitif; - : EPS oluşumu negatif; Z : zayıf EPS oluşumu

Çizelge 4.4 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretimi sonuçları - 2

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi
K13E2	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	-
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	Z
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	+
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	Z
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	-
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	Z
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	-
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	-
+ : EPS oluşumu pozitif; - : EPS oluşumu negatif; Z : zayıf EPS oluşumu		



Çizelge 4.4. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretimi sonuçları - 3

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E3	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-

+ : EPS oluşumu pozitif; - : EPS oluşumu negatif; Z : zayıf EPS oluşumu

Çizelge 4.4. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretimi sonuçları - 4

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	-
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E5	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-

+ : EPS oluşumu pozitif; - : EPS oluşumu negatif; Z : zayıf EPS oluşumu

Çizelge 4.4 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretimi sonuçları - 5

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K79E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	+
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K80E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K80E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	-
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-
+ : EPS oluşumu pozitif; - : EPS oluşumu negatif; Z : zayıf EPS oluşumu		

Enterokok türlerin ekzopolisakkarit üretimi ile gerçekleştirilen sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Jamaly (2010) Fas süt ürünlerinden izole ettiği 23 *E. durans* suşunun hepsinin EPS üretme yeteneğinde olduğunu belirlemiştir. Omafuvbe and Enyioha (2011) Nijeryada tüketilen yoğurtlardan izole ettiği 2 adet *E. faecalis* suşudan 1 tanesinin izole ettiği *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Lactococcus* türlerine göre daha yüksek EPS üretme yeteneğinde olduğunu belirlemiştir.

#### 4.4. Lipolitik Aktivite Sonuçları

Lipoliz, lipaz gibi lipolitik enzimlerin etkisi ile lipitlerin hidrolizasyona uğraması ve yapı taşları olan gliserin ile yağ asitlerine parçalanması olayıdır. Lipaz enzimi süte özgü, doğal veya mikrobiyal kaynaklı olabilmektedir. Genellikle laktik asit bakterileri zayıf denecek düzeyde lipolitik aktiviteye sahiptir ve daha çok mono- ve digliseritler üzerine etkilidirler. Lipoliz bazı peynir çeşitlerinin arzu edilen niteliklerini kazanması için istenilen bir özelliktir (Kılıç, 2011).

Yağ asitleri pek çok peynir çeşidinin lezzetine direkt etki etmektedir. Özellikle C4 (bütirik asit) - C10 (kaproik asit) asitler güçlü lezzete (ransid, keskin, keçimsi, sabunumsu, hindistan cevizi benzeri) sahiptirler. Yağ asitlerinin miktarı çeşitler arasında oldukça değişkenlik göstermektedir. Peynir lezzetine direkt etkilerine ilave olarak, yağ asitleri olgunlaşma sırasında diğer uçucu lezzet bileşiklerinin üretiminde öncü maddeler olarak görev yapmaktadırlar (Yıldız ve Ötleş, 2010).

*Enterococcus* tür ve suşlarının lipolitik aktivite testi sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde 17 adet *E. faecium*, 2 adet *E. faecalis*, , 1 adet *E. durans* ve 1 adet *E. hirae* suşunun lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.5 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları -1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Lipolitik aktivite
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	+
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	+
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
+ : lipolitik aktivite pozitif; - : lipolitik aktivite negatif		

Çizelge 4.5 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları -2

İzolasyon No	Fenotipik Tanımlama	Lipolitik aktivite
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K13E2	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	-
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	-
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	-
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	-
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	-
+ : lipolitik aktivite pozitif; - : lipolitik aktivite negatif		

Çizelge 4.5 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları - 3

İzolot No	Fenotipik Tanımlama	Lipolitik aktivite
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K64E3	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K69E6	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-
+ : lipolitik aktivite pozitif; - : lipolitik aktivite negatif		

Çizelge 4.5 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları - 4

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Lipolitik aktivite
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	-
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	+
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	+
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	-
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-
+ : lipolitik aktivite pozitif; - : lipolitik aktivite negatif		

Çizelge 4.5 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların lipolitik aktivite sonuçları - 5

İzolot No	Fenotipik Tanımlama	Lipolitik aktivite
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K79E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	-
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	-
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-
K80E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
K80E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	-
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-
+ : lipolitik aktivite pozitif; - : lipolitik aktivite negatif		

Literatürlerde enterokok türlerinin lipolitik aktivitelerine ilişkin çelişkili veriler ve ifadeler bulunmaktadır. Suzzi et al. (2000) farklı türlerin suşlarında lipolitik aktivite gözlemezken, Durlu-Özkaya (2001) *E. faecalis*'in *E. faecium* ve *E. durans*'a göre süt trigliseritlerini daha yüksek düzeyde hidrolize ettiğini rapor etmiştir.

Dovat et al. (1970) yağsız süt ve kremada geliştirdiği 16 *Enterococcus* ve 5 *Streptococcus* türünün lipolitik aktivitesini tribütrin içeren besiyerinde inceledikleri bir çalışmada enterokok türlerinin streptokok türlerine göre daha yüksek lipolitik aktiviteye sahip olduğunu saptamıştır.

Martínez-Moreno (1976) Manchego peynirinden izole ettiği *Enterococcus* suşlarının (*E. durans*, *E. faecium* ve *E. faecalis*) yalnızca tribütirin'e karşı etkili olduğunu, süt yağına etki göstermediğini belirlemiştir.

Carrasco de Mendoza et al. (1992) süttteki enterokokların lipolitik aktivitesinin suşa bağlı olduğu ve çalışılan suşların pek çoğunun düşük aktivite



gösterdiğini ve yalnızca birkaç *E. faecalis* türünün lipolitik olarak karakterize edilebileceğini belirtmiştir.

Tavaria and Malcata (1998) Serra da Estrela peynirinden izole edilen *E. faecium* suşlarının *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarına göre süt yağını daha fazla hidrolize ettiğini öne sürmüştür.

Sarantinopoulos et al. (2001) 129 enterokok suşu üzerinde yaptığı araştırmada *E. faecalis* suşlarının daha lipolitik olduğunu, bunu *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının izlediğini belirlemiştir.

Serio et al. (2010) 34 *E. faecium*, 28 *E. faecalis* ve 8 *E. durans* suşunun lipolitik aktivitesini tribütirin agarda incelemiş, hiçbir suşun tribütirini hidrolize etmediği yalnızca tek bir *E. faecium* suşunun tereyağını hidrolize ettiğini ortaya koymuştur.

Omafuvbe and Enyioha (2011) Nijerya şişe yoğurtlardan izole ettiği 2 adet *E. faecalis* suşundan bir tanesinin lipolitik aktivite gösterdiğini saptamıştır.

Morandi et al. (2006) Kuzeybatı İtalya bölgesi süt ürünlerinden izole ettiği 68 adet enterokok türünün sınırlı lipolitik aktivite gösterdiğini ifade etmiştir.

#### 4.5 Vankomisin Direnci

Genellikle gıda kaynaklı VRE (vankomisin dirençli Enterokoklar)'ler, medikal kaynaklı vankomisin dirençli Enterokok (VRE) izolatlarından daha düşük oranda virulans faktör taşımaktadırlar. Gıda kaynaklı *Enterococcus*'ların henüz direkt klinik enfeksiyonlara yol açtığı gözlenmemiştir. Ayrıca şimdiye kadar herhangi bir probiyotik kaynaklı enterococcal enfeksiyon raporuna rastlanmamıştır. Son on yıl boyunca VRE'lerin sayısında artış gözlenmiştir. Gıda endüstrisinde kullanılacak *Enterococcus* türlerinin seçiminde, türlerin patojenik özellikler ve antibiyotik direnç genleri taşımamasına dikkat edilmesi gerekmektedir (Erginkaya vd., 2007).

Tanısı yapılan *Enterococcus* türlerinin vankomisin direnç sonuçları Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Çalışmada tüm izolatlara vankomisin direnci testi uygulanmış ve 6 yada 13µg/L seviyesinde vankomisin direnci saptanan suşlar ileri

testlere tabi tutulmadan stoklanarak ayrılmıştır. Söz konusu çizelge incelendiğinde 172 izolattan 12 tanesinin (9 suş *E. faecium*, 1 suş *E. faecalis* var., 1 suş *E. durans* ve 1 suş *E. faecalis*) 6 mg/L düzeyinde vankomisine tam direnç, 3 tanesinin (2 suş *E. faecium* ve 1 suş *E. faecalis* var.) zayıf direnç gösterdiği görülmektedir. 13mg/L düzeyinde vancomisin'e direnç sonuçları incelendiğinde ise 5 izolatin (3 suş *E. faecium*, 1 suş *E. durans* ve 1 suş *E. faecalis* var.) tam direnç, 1 suşun (*E. faecium*) zayıf direnç gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4.6 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların vankomisin direnci testi sonuçları - 1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Vankomisin (6mg)	Vankomisin (13mg)
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K13E2	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	Z	-
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-

+ : pozitif vankomisin direnci, - : negatif vankomisin direnci, z : zayıf vankomisin direnci

Çizelge 4.6 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların vankomisin direnci testi sonuçları - 2

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Vankomisin (6mg)	Vankomisin (13mg)
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	Z
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	-
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	-
K64E3	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+	+
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-

+ : pozitif vankomisin direnci, - : negatif vankomisin direnci, Z : zayıf vankomisin direnci

Çizelge 4.6 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların vankomisin direnci testi sonuçları - 3

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Vankomisin (6mg)	Vankomisin (13mg)
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E6	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-	-
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-	-

+ : pozitif vankomisin direnci, - : negatif vankomisin direnci, Z : zayıf vankomisin direnci

Çizelge 4.6. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların vankomisin direnci testi sonuçları - 4

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Vankomisin (6mg)	Vankomisin (13mg)
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K79E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	Z	-
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K80E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-

+ : pozitif vankomisin direnci, - : negatif vankomisin direnci, Z : zayıf vankomisin direnci

Çizelge 4.6 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların vankomisin direnci testi sonuçları - 5

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Vankomisin (6mg)	Vankomisin (13mg)
K80E5	<i>Enterococcus faecalis</i> var.	-	-
GE66	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
UWWE3080	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
UWWE3102	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-

+ : pozitif vankomisin direnci, - : negatif vankomisin direnci, Z : zayıf vankomisin direnci

Enterokokkal enfeksiyonlar içerisinde *E. faecalis* ile oluşan enfeksiyonların oranı diğer türlere göre 10 kat fazladır. Ancak son yıllarda, vankomisine dirençli enterokok (VRE) ların ortaya çıkması nedeniyle bu oran gittikçe düşmüş ve *E. faecium* izolatları ön plana çıkmaya başlamıştır. Enterokokların çoğu doğal olarak;  $\beta$ -laktamlar, klindamisin, düşük konsantrasyonda aminoglikozid ve florokinolonlar gibi antimikrobiyallere direnç göstermektedirler. Doğal olarak ampisilin ve vankomisine duyarlıdır, fakat bu antibiyotiklere maruz kaldıklarında direnç geliştirmektedirler. Ayrıca; tetrasiklinlere, makrolid, glikopeptidlere (vankomisin ve teikoplanin) kloramfenikol ve yüksek düzeydeki aminoglikozidler yanında  $\beta$ - laktamlara da direnç kazanabilirler.

Enterokoklarda bugüne kadar glikopeptidler için VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG olmak üzere altı direnç fenotipi tanımlanmıştır. Dahlen et al. (2000), API test kitleri ile tanıladıkları 26 adet *E. faecalis* ve 3 adet *E. faecium* suşunun E-Test metodunu (Biodisk AB, Solna, Sweden) kullanarak antibiyotik duyarlılıklarını incelemişlerdir. Bu araştırmacılar vankomisin antibiyotiğini kullanarak minimum inhibisyon değerlerini bulmuş, ve bütün suşların vankomisine duyarlı ( $\leq 8\mu\text{g/ml}$ ) olduğunu belirlemişlerdir.

Jamaly (2010) Fas süt ürünlerinden izole ettiği 23 *E. durans* suşunun hepsinin vankomisine duyarlı ( $< 2\mu\text{g/ml}$ ) olduğunu saptamıştır. Giraffa and Sisto (1997), peynirlerden izole edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının vankomisin'e direnç göstermediğini tespit etmişlerdir.

Karakaş (2005) bazı peynir örneklerinden izole ettiği *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının 4  $\mu\text{g/ml}$  ve 6  $\mu\text{g/ml}$  düzeyinde vankomisin'e duyarlı olduğunu

ancak referans olarak kullandığı *E. faecium* 1045803 suşunun vankomisine dirençli olduğunu belirlemiştir.

Temmerman et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada izole edilen enterokokların disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve enterokokların % 38'inin vankomisine dirençli oldukları belirlenmiş, Başyigit (2004) ise klinik örneklerden izole ettiği enterokoların % 81'inin vankomisine dirençli olduklarını tespit etmiştir.

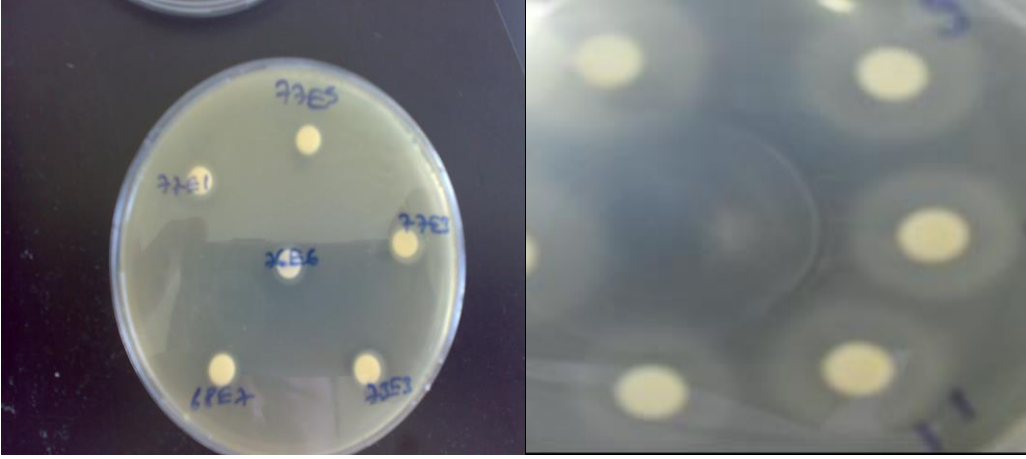
Yousif et al. (2005) Afrika fermente sorgum ürünlerinden izole edip tanıladığı 22 adet *E. faecium* izolatının büyük kısmının 32 µg/mL seviyesinde vankomisine dirençsiz olduğunu, üç adeninin ise 256 µg/mL'a direnç gösterdiğini saptamışlardır.

Morandi et al. (2006) Kuzeybatı İtalya bölgesi süt ürünlerinden izole ettiği 68 adet enterokok tür ve suşlarının 8 mg/L seviyesinde vankomine hassasiyet gösterdiğini ortaya koymuştur.

#### 4.6 Antimikrobiyal Aktivite

Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* suşlarından antimikrobiyal aktivite gösteren suşlarının patojen ve bozucu bakterilerine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Bu çizelgede disk çapı dahil 6– 8 mm arasında oluşan zonlar “küçük inhibisyon zonu” olarak değerlendirilerek (-) olarak verilirken, 8 mm'den büyük zonlar “büyük inhibisyon zonu” olarak değerlendirilmiş ve çap olarak verilmiştir. Antimikrobiyal aktivitesi çok düşük olarak belirlenen suşlar daha sonraki testlere tabi tutulmadan stoklanarak ayrılmıştır. *Enterococcus* türlerinin antimikrobiyal aktivite görüntüleri Resim 4.3.'de verilmiştir.

Söz konusu çizelge incelendiğinde en yüksek antimikrobiyal aktivite değeri *E. faecium* 78E1 suşunda belirlenmiş, bu suş sadece *Staph. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Çizelgeden, antimikrobiyal aktivitesi yüksek diğer *E. faecium* suşlarının K17E1, K17E3, K16E3, K60E2, K51E1, K71E5, K77E6, K76E3, K75E6, K77E5 olduğu görülmektedir.



Resim 4.3 *Enterococcus* türlerine ait antimikrobiyal aktivite görüntüleri ve inhibisyon zonları

*E. faecalis* K8E6, K51E3 ve *E. durans* 61E5 suşları en yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren *Enterococcus* tür ve suşları olarak belirlenmiş ve bu suşlar arasında *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *P. aureginosa* ve *A. hydrophilia* gibi test bakterilerine karşı aktivite gösteremeyenler de bulunmaktadır.

Çizelge 4.7. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların antimikrobiyal aktiviteleri - 1 ( mm olarak zon çapları)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Pseu. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>Pseu. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	10	7	-	7	-	-	7	-	-
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	7	-	-	-	-	9
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	8	7	-	-	7	-	7	-	7
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	-	-	-	7	-	8
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	-	-	-	-	-	-	-
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	7	-	8	8	-	8
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	9	-	7	7	-	-	7	-	8
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	8	-	7	7	-	7	8	-	8
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	-	9	-	-	7	-	8
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	10	7	-	7	-	-	-	-	-

\*7 mm'den küçük zon çapları (-) olarak verilmemiştir.



Çizelge 4.7. İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların antimikrobiyal aktiviteleri - 2 ( mm olarak zon çapları)

İzolasyon No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Pseu. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>Pseu. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	9	-	-	7	-	-	8	-	-
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	9	-	-	7	-	-	8	-	8
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	10	8	-	8	8	-	7	-	-
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	9	7	-	-	9	-	7	-	-
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	10	7	-	-	-	-	-	-	-
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	7	8	10	-	-	-	-
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	8	8	-	-	-	-	-
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	8	7	-	-	-	7
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	7	-	-	8	-	-
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	8	8	8	8	8	8	-	8
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	8	10	8	7	-	7	-	-
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	7	7	-	-	8	-	-
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	7	8	8	-	9	-	7
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	-	-	-	-	-	-
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	8	8	8	7	-	7	-	-
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	8	9	7	7	-	7	-	-
K13E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	7	8	8	7	-	8	-	7
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	7	-	-	-	-	8
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	7	8	-	-	-	7
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	7	8	7	-	-	-	-
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	8	8	9	-	-	-	-
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	8	-	7	-	-	9	-	-	-
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	8	7	9	8	7	8	7	-	-
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	9	8	8	7	8	8	-	8
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	8	8	10	-	9	7	8
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	-	8	7	7	7	-	8	7	-
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	10	7	11	8	8	8	-	8
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	9	7	10	9	7	9	-	-
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	7	-	-	-	7	-	7
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	7	8	7	7	8	-	8	-	-
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	8	8	-	8	-	-
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	-	-	-	-	7	-	-
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	7	-	-	-	-	-	-
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	8	-	7	-	-	-	-	-	-

\*7 mm'den küçük zon çapları (-) olarak verilmemiştir.

Çizelge 4.7. İzole edilen *Enterococcus* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri - 3  
(mm olarak zon çapları)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Pseu. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>Pseu. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	10	8	7	8		-	-	7	
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	7	-	-	-	-	-	-	-	-
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	8	7	-	7	7	-	-	-
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	8	-	8	-	-	7	-	-
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	8	-	-	-	7	-	7
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	7	7	-	7	-	7
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	7		16	7	-	8	8
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	8	8	7	10	-	7	7	7	-
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	7	11	10	-	14	8	-	8	14
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	7	10	7	7		7	-	7	
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	7	7	10	-	-	-	-	-	-
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	9		-	-	11	-	12
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	12		10	7	-	9	17
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	7	8	7	-		-	7	-	
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	-	7	8	-	7	7	11	7	18
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	7	9	8		7	7	-	-	13
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	7	8		-	-	-	
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	7	9	8	8	-	7	7	7	-
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	8	9	8	7	-	-	-	8	-
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	7	9	-	-	-	-	-
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	8	7	-		-	-	-	-	11
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	-		-	7	-	7	10
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	8	8		-	7	-	-
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	7		-	-	8	-	8
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	8	7		-	-	-	-
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	7	10		-	-	-	-
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	8	8		-	-	-	-
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	9	7	-	8	-	-	7	7	-
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	9	8	7	7	-	7	-	7	
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	8	10		-	9	8	-	7
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	8	7	10	10	-	-		7	-
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	11	8	-	7	-	8	-
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	7	10	7	7	-	7	-	7	-
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	11	7	-	7	8	7	-
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	7	9	-	-	9	-	-
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	10	8	8	11	-	7	8	7	-
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	8	7	-	-	9	-	-

\* 7 mm'den küçük zon çapları (-) olarak verilmemiştir.

Çizelge 4.7. İzole edilen *Enterococcus* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri - 4  
( mm olarak zon çapları)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Pseu. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>Pseu. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	7	-	-	-	8	-	-
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	8	8	-	-	7	9	-	7
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	7	7	8	-	-	7	7	-	7
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	9	-	7	7	8	-	8
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	7	-	-	8	11	-	7
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-	7	-	-	7	-	-	-
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>									
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	8	-	-	7	8	-	7
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	7	-	-	-	-	-	-	-
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	9	-	-	7	-	-	-
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	7	-	8	-	7	8	8	-	8
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	8	-	8	9	8	-	8
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	7	-	-	8	-	-	10
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	8	-	-	11	9	-	7
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	13	-	8	12	9	-	8
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	7	-	-	9	10	-	8
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	9	12	9	-	-	7	-	-	8
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	7	-	-	9	7	7	7
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	9	9	9	9	7	8	8	-	9
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	9	-	-	-	7	-	9
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	8	8	8	-	-	8	9	-	8
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	9	-	8	-	7	-	9	-	8
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	7	-	7	7	7	-	7
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	9	10	10	-	7	8	8	-	8
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	7	8	-	7	7	7	7	8
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	8	8	-	7	7	9	-	8
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	-	8	-	-	-	8
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	-	8	8	8	8	8
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	8	-	8	7	8	8	8
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	-	-	-	8	8	-
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	7	8	8	-	-	7	-	-	8
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	9	-	-	-	7	8	-	-
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	7	-	-	-	-	9	-	-	7
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	7	-	-	-	-	8	8	-	7
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	7	-	-	-	10	8	7	-
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	7	9	-	-	8	-	-	9

\*7 mm'den küçük zon çapları (-) olarak verilmemiştir.

Çizelge 4.7 İzole edilen *Enterococcus* türleri ile referans suşların antimikrobiyal aktiviteleri - 6 ( mm olarak zon çapları)

İzolot No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	9	8	-	-	7	8	-	-
K80E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	8	7	-	-	-	-	-	-	8
K80E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	7	-	-	-	-	8	-	-	-
*7 mm'den küçük zon çapları (-) olarak verilmemiştir.										

Denemesi gerçekleştirilen tüm izolatlar açısından değerlendirme yapıldığında suşların büyük çoğunluğunun *E. coli*'ye etki gösterdiği, bunu *P. aureginosa* ve *L. monocytogenes*'in izlediği görülmektedir. Suşların az bir kısmı ise *B. cereus*'a etki göstermiştir. Çeşitli kaynaklardan izole edilen *Enterococcus* türlerinin *B. cereus*'a daha düşük aktivite gösterdiği, *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı daha etkili olduğu Silva do Nascimento et al. (2010), Hajikhani et al. (2007), Lertworapreecha et al. (2011) gibi araştırmacıların çalışmaları ile de ortaya konmuştur.

#### 4.7 Dekarboksilasyon Testi

Lisin ve ornitin amino asitleri kullanılarak dekarboksilasyon testi gerçekleştirilen *Enterococcus* türlerinin teste ilişkin sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Test 95 adet *E. faecium*, 12 adet *E. durans*, 5 adet *E. faecalis var.*, 3 adet *E. faecalis* ve 2 adet *E. hirae* üzerinde gerçekleştirilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde toplam 91 *E. faecium* suşunun 21 adedinin ornitini, 8 adedinin lisini, 5 adedinin ise her iki amino asidi birlikte karboksile ettiği görülmektedir. 12 *E. durans* suşunun 2 adedi lisini, 2 adedi ise hem lisini hem de ornitini, 5 *E. faecalis var.* suşunun 2 tanesi ise yalnızca ornitini dekarboksile etmiştir. *E. faecalis* ve *E. hirae* suşlarının hiç biri dekarboksilasyon pozitif sonuç vermemiştir. *Enterococcus* türlerinin Moeller Decarboxylase Broth'ta verdiği reaksiyonlar Resim 4.4'de verilmiştir.



Resim 4.4 *Enterococcus* türlerinin Moeller Decarboxylase Broth'ta verdiği reaksiyonlar (Sarı renk: negatif, Mor renk: pozitif)

Çizelge 4.8. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının lisin ve ornitin dekarboksilasyon testi sonuçları - 1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Lisin Dekarboksilasyon	Ornitin Dekarboksilasyon
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	+	+
<b>NRRL-B2354</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
+ : dekarboksilasyon pozitif; - : dekarboksilasyon negatif			

Çizelge 4.8. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının lizin ve ornitin dekarboksilasyon testi sonuçları - 2

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Lizin Dekarboksilasyon	Ornitin Dekarboksilasyon
ATCC29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	-
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	-
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
NRRL-B3502	<i>E. casseliflavus</i>	-	+

+ : dekarboksilasyon pozitif; - : dekarboksilasyon negatif

Çizelge 4.8. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının lisin ve ornitin dekarboksilasyon testi sonuçları - 3

İzolasyon No	Fenotipik Tanımlama	Lisin Dekarboksilasyon	Ornitin Dekarboksilasyon
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	-	+
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	+
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K79E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	-
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	-	-

+ : dekarboksilasyon pozitif; - : dekarboksilasyon negatif

Çizelge 4.8. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının lisin ve ornitin dekarboksilasyon testi sonuçları - 4

K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
K80E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	+
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	-	+
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-	+
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	-	-
+ : dekarboksilasyon pozitif; - : dekarboksilasyon negatif			

Sarantinopoulos et al. (2001) 129 enterokok suşu (*E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans*) üzerinde yaptığı araştırmada hiç bir suşun lisin veya ornitini dekarboksile etmediğini belirlemiştir.

Tuncer (2009) Türk tipi tulum peynirinden izole edip tanıladığı 39 enterokok tür ve suşlarından hiçbirinin lisin veya ornitin'i dekarboksile etmediğini saptamıştır.

Yousif et al. (2005) Afrika fermente sorgum ürünlerinden izole ettiği 22 adet *E. faecium* izolatının hiç birinin lisin ve ornitini dekarboksile etmediğini ortaya koymuşlardır. Hassaine et al. (2008) çiğ süt örneklerinden izole ettiği enterokok türlerinin lisin ve ornitini dekarboksile etmediğini belirlemiştir. Ben Belgacem et al. (2010) geleneksel bir fermente et ürünü olan Gueddid'den izole ettiği 24 adet *E. faecium* suşundan hiçbir tanesinin lisin ve ornitini dekarboksile etmediğini saptamıştır.

Omafuvbe and Enyioha (2011) Nijerya'da tüketilen yoğurtlardan izole ettiği 2 adet *E. faecalis* suşunun lisin ve ornitini dekarboksile ettiğini belirlemiştir.

#### 4.8 Proteolitik Aktivite

Proteolitik aktivite, doğal veya mikrobiyal kaynaklı proteolitik enzimler ile proteinlerin hidrolize edilmesidir. Proteolitik aktivite, hem starter kültürlerin asit oluşturma fonksiyonu hem de ürünün duyuşal nitelikleri açısından önem taşımaktadır. Yapılan araştırmalarda, laktik asit bakterilerinde, laktik asit üretimi ve proteolitik aktivitenin cins, tür ve suşlar arasında farklılık gösterdiği



belirlenmiştir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003). Kazeinin  $\alpha_{S1}$  fraksiyonunun hidrolizi sonucu taze peynirdeki elastiki yapı olgun peynire özgü yumuşak yapıya dönüşmektedir. Ayrıca peynirlerde proteoliz sonucu oluşan küçük moleküllü peptitler ve serbest aminoasitler çeşitli enzimatik ve kimyasal değişimlere uğrayarak aldehit, keton, amin v.b. aroma bileşiklerinin oluşumunda rol oynamaktadırlar (Karakuş, 1994).

Çalışmada incelenen farklı özellikteki ve gelişme koşullarında yüksek aktivite gösteren izolatlar değerlendirmeye alınmış, canlılığını sürdüremeyen suşlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. İncelenen *Enterococcus* türlerinin proteolitik aktivite sonuçları, Çizelge 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının proteolitik aktivite sonuçları – 1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Opa-Değerleri
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	0,44
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,44
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,42
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	0,48
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,47
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,49
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,43
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,39
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	0,49
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,49
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	0,42
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,40
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,50
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,47
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,47
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,35
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,40
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,35
<b>NRRL-B2954</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	0,18
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	0,23

Çizelge 4.9. İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının proteolitik aktivite sonuçları -2

İzolat No	Fenotipik Tanılama	Opa - Değeri
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,19
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	0,25
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	0,37
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,36
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,37
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,39
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	0,40
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,40
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,45
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,33
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,37
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,36
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,44
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,45
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,36
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	0,41
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,47
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	0,43
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,48
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,41
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,32
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,49
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,34
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	0,47
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,44
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,38
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,36
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	0,42
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	0,26
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,20
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	0,21
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,24
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,24
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	0,23
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	0,28
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	0,21

Çizelge incelendiğinde teste alınan türlerin büyük çoğunluğunu *E. faecium* suşlarının oluşturduğu ve proteolitik aktivitelerinin OPA değeri olarak 0,21 – 0,50 arasında değiştiği görülmektedir. OPA değerleri *E. durans* suşlarında 0,28 – 0,49, *E. hirae* suşlarında 0,21-0,48 arasında değişim göstermiştir. Teste alınan *E. faecalis* var. suşunda anılan değer 0,41 olarak belirlenirken, referans *E. casseliflavus* suşunda 0,23 olarak tespit edilmiştir. Enterokokların proteolitik aktivitesinin izole edildiği kaynak, tür ve suşa bağlı olarak değiştiği yapılan pek çok araştırma ile de ortaya konmuştur.

Wallace and Harmon (1970) bir *E. durans* suşunun intrasellüler proteazı üzerine çalışmış, üretilen proteazın özellikle kazein ve  $\beta$ -laktoglobulin'e karşı aktif olduğu, sığır serum albümini hidrolize etmediğini belirlemiştir.

Dovat et al. (1970) sütteki enterokokların proteolitik aktivitesi üzerine çalışmışlar ve düşük proteolitik aktivite sergilediklerini ortaya koymuşlardır.

Carrasco de Mendoza et al. (1989) 61 *Enterococcus* suşunun extrasellüler proteolitik aktivitesini belirlemede sodyum kazeinat'ı substrat olarak kullandığı çalışmada proteolitik aktivitenin suş ve zamana bağlı olarak değişebildiğini ve 48 saatlik inkübasyon sonunda *E. faecalis* suşlarının daha yüksek proteolitik aktivite gösterdiği, 120 saatlik inkübasyon sonunda bu durumun daha da belirginleştiğini saptamışlardır.

Wessels et al. (1990) çeşitli süt ürünlerinden izole ettiği 108 adet *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans* suşunun yarısından fazlasının soğuk koşullarda gelişerek proteolitik aktivite gösterdiğini saptamıştır.

Villani and Coppola (1994) 24 *E. faecium* ve 60 *E. faecalis* suşunun yağsız sütte 37°C'de 6 saat süre inkübasyon sonundaki proteolitik aktivitesini incelemiş, *E. faecium* suşları ile karşılaştırıldığında tüm *E. faecalis* suşlarının daha proteolitik olduğu belirlenmiştir.

Andrighetto et al. (2001) geleneksel İtalyan peynirlerinden izole ettiği 124 enterokok türü üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada sütte zayıf proteolitik aktivite gösterdiklerini ve *E. faecalis* suşlarının da arasında bulunduğu 30 suşun daha proteolitik olduğunu ortaya koymuştur.

Sarantinopoulos et al. (2001) 129 *E. faecium*, *E. durans* ve *E. faecalis* suşunun düşük extraselüler proteolitik aktivite gösterdiğini ve *E. faecalis* suşlarının daha proteolitik olduğu görülmüştür.

#### 4.9 Asit Direnci

Probiyotik olarak kullanılacak bakterilerin bağırsak sisteminde yararlı etkilerini gösterebilmeleri, midenin asit ortamından canlı olarak geçmelerine bağlıdır. Bu nedenle probiyotik bakterilerin seçiminde asidik koşullara dayanım önem taşımaktadır. İzole edilen kültürler arasından seçilen 56 adet suş üzerinde gerçekleştirilen asit direnci sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının asit direnci (pH: 2, 2.5 ve 3.0) testi sonuçları - 1

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Asit Direnci (2.0 pH)	Asit Direnci (2.5 pH)	Asit Direnci (3.0 pH)
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	+
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	+
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	Z	+
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	Z	+	+
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	Z	+
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	+
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	+
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	-	Z	+
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+

+ : asit direnci var, z : zayıf asit direnci, - : asit direnci yok

Çizelge 4.10 İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının asit direnci (pH: 2, 2.5 ve 3.0) testi sonuçları - 2

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Asit Direnci (2.0 pH)	Asit Direnci (2.5 pH)	Asit Direnci (3.0 pH)
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	Z	+	+
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	Z	+
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	Z	Z
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	-	Z	+
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	Z	Z
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	Z
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	Z	+	+
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	Z	Z	+
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	Z	Z
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	Z	+	+
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	-	Z	+
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	+	+
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	Z	+
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	Z	Z	+
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	z

+ : asit direnci var, z : zayıf asit direnci, - : asit direnci yok

Çizelge 4.10 İzole edilen *Enterococcus* tür ve suşlarının asit direnci (pH: 2, 2.5 ve 3.0) testi sonuçları - 3

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Asit Direnci (2.0 pH)	Asit Direnci (2.5 pH)	Asit Direnci (3.0 pH)
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	Z
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	z	z	+
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	z	+	+
K79E4	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	-	z	+
+ : asit direnci var, z : zayıf asit direnci, - : asit direnci yok				

Çizelge incelendiğinde 17 adet *E. faecium*, 3 adet *E. durans* ve 1 adet *E. faecalis* suşunun pH 2.0, 2.5 ve 3.0'da canlılığını sürdürdüğü görülmektedir. *E. hirae* suşları ise yalnızca pH 2.5 ve 3.0'da canlılık göstermiş, pH 2.0'de zayıf canlılık göstermiştir. *E. faecalis var.* suşu ise pH 2.0'da canlılık göstermemiştir. pH 2.5'da zayıf canlılık, pH 3'de canlılık belirlenirken, *E. faecium* ve *E. durans* suşları arasında ise pH koşullarına direnç gösterememiş ve canlılığını koruyamamış suşlar tespit edilmiştir.

Başığit (2004) çeşitli enterokok türlerinde (*E. saccharolyticus*, *E. faecalis*, *E. malodoratus*, *E. cecorum*) pH 3,5'a dayanım testi uygulamıştır. Yapılan çalışmada 33 adet enterokok'un % 48'inin asit ortamda canlılıklarını devam ettirebildikleri ve gelişebildikleri belirlenmiştir.

Strompfová and Lauková (2007) *E. faecium*'un pH 3.0'da 3 saat canlılığını koruyabileceğini belirtmiştir.

#### 4.10 İzmir Tulum Peyniri Üretimi İçin Uygun *Enterococcus* Türlerinin

##### Seçimi ve Kültür Kombinasyonlarının Hazırlanması

Peynirlerin üretiminde kullanılacak kültürlerin hazırlanmasında yapılan aktivite denemeleri sonucu en yüksek değerleri gösteren ve probiyotik özellikteki *E. faecium* K65E2, *E. faecium* K66E2, *E. faecium* K73E2 ve *E. durans* K61E5 suşları kullanılmıştır. Seçilen probiyotik *Enterococcus* suşları 2 kez M-17 besiyerine aktarılarak aktive edilmiş ve eşit oranlarda %12 yağsız kurumadde olacak şekilde yağsız süttozundan hazırlanmış steril besi ortamına eşit oranlarda

aktarılarak 37°C’de inkübasyona bırakılmış, pH: 4.8’de inkübasyona son verilmiştir. 1 gece 4°C’de bekletilen besiyerinin *Enterococcus* ssp. içeriği  $11.23 \pm 0.01$  Log kob mL<sup>-1</sup> olarak saptanmıştır.

Aynı şekilde *Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris* içeren ticari peynir kültürü üretici firma önerilerine göre hazırlanmıştır. Liyofilize kültür yağsız süttozu kullanılarak hazırlanan % 12 yağsız kurumaddeli steril rekonstitüye yağsız süt kullanılarak aktive edilmiştir. Hazırlanan bu kültürün de bakteri içeriği  $11.09 \pm 0.02$  Log kob mL<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Hazırlanan iki kültür % 0, % 5, % 10 ve % 20 *Enterococcus* ssp. içerecek şekilde ayrılarak kombinasyonlar oluşturulmuştur. Elde edilen kültürler ve *Lactococcus* ssp. ve *Enterococcus* ssp. içerikleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan kültürlerin *Lactococcus* ssp. ve *Enterococcus* ssp. İçerikleri (Log kob mL<sup>-1</sup>)

<b>Kültür Kodu</b>	<b><i>Lactococcus</i> ssp.</b>	<b><i>Enterococcus</i> ssp.</b>	<b>Maya-Küf</b>	<b>Toplam Koliform</b>
<b>A</b>	11.09 ± 0.02	< 10	< 10	< 10
<b>B</b>	11.05 ± 0.01	9.92 ± 0.01	< 10	< 10
<b>C</b>	11.00 ± 0.03	10.21 ± 0.04	< 10	< 10
<b>D</b>	10.95 ± 0.01	10.53 ± 0.02	< 10	< 10

**A:** % 0 *Enterococcus* ssp. içeren kültür

**B:** % 5 *Enterococcus* ssp. içeren kültür

**C:** % 10 *Enterococcus* ssp. içeren kültür

**D:** % 20 *Enterococcus* ssp. içeren kültür

#### 4.11 İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Kullanılan Çiğ Süt ve Isıl İşlem

##### Görmüş Sütlerin Özellikleri

Tüm süt ürünlerinde olduğu gibi, peynirin kalite özellikleri açısından, hammadde olarak kullanılan çiğ sütün bileşimi ve özellikleri önem taşımaktadır. İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan çiğ süt ve ısıl işlem uygulanmış sütlerin bileşimi belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12.’de verilmiştir.

Buna göre İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan çiğ sütün ortalama yağsız kurumadde içeriği % 8,60, yağ oranı % 3,48 ve protein oranı % 3,14 olarak belirlenmiştir. pH değerleri ortalama 6,55 olarak belirlenmiş olup, titrasyon asitliği (% laktik asit) % 0,158 olarak tespit edilmiştir.

Pastörizasyon sonrası alınan süt örneğinin ise ortalama yağsız kurumadde içeriği % 8,53, yağ oranı % 3,48 ve protein oranı % 3,13 olarak bulunmuştur. pH değerleri ortalama 6,60 olarak belirlenmiş olup, titrasyon asitliği (% laktik asit) % 0,167 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.12 İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan çiğ ve ısıl işlem görmüş sütlerin fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

Nitelik	Çiğ Süt (n=2)	Isıl İşlem Görmüş Süt (n=2)
pH	6,55 ± 0,00	6,60 ± 0,00
Titrasyon asitliği (g 100g <sup>-1</sup> L.A.)	0,158 ± 0,01	0,167 ± 0,01
Yağsız Kurumadde (g 100g <sup>-1</sup> )	8,60 ± 0,06	8,53 ± 0,04
Yağ (g 100g <sup>-1</sup> )	3,48 ± 0,04	3,48 ± 0,04
Toplam Azot (TN) (g 100g <sup>-1</sup> )	0,49 ± 0,02	0,49 ± 0,01
Protein (g 100 g <sup>-1</sup> )	3,14 ± 0,02	3,13 ± 0,01
<i>Lactobacillus</i> ssp. (Log kob mL <sup>-1</sup> )	6,65 ± 0,43	3,75 ± 0,02
<i>Lactococcus</i> ssp. (Log kob mL <sup>-1</sup> )	8,14 ± 0,08	3,97 ± 0,03
<i>Enterococcus</i> ssp. (Log kob mL <sup>-1</sup> )	6,54 ± 0,08	3,86 ± 0,01

22.8.2006 tarihli resmi Gazete’de yayınlanan, Türk Gıda Kodeksi Çiğ ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’ne göre tam yağlı çiğ inek sütü en az % 2,8 protein, % 3,5 yağ, % 8,5 yağsız kurumadde içermeli ve asitliğinin laktik asit cinsinden % 0,135 – 0,20 olması gerekmektedir. Buna göre peynirlerin üretiminde kullanılan çiğ inek sütleri Türk Gıda Kodeksi Çiğ ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’ne uygunluk göstermektedir (Anonymous, 2006b).



#### 4.12 İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Elde Edilen Peyniraltı Sularının Özellikleri

İzmir Tulum Peyniri üretiminde elde edilen peyniraltı sularının özellikleri Çizelge 4.13.'de verilmiştir.

Çizelge 4.13 İzmir Tulum Peyniri üretiminde elde edilen peyniraltı sularının özellikleri

	A	B	C	D
pH	5,98 ± 0,04	5,97 ± 0,02	5,56 ± 0,01	5,57 ± 0,01
Protein (g 100g <sup>-1</sup> )	2,48 ± 0,02	2,49 ± 0,01	2,56 ± 0,01	2,51 ± 0,01
Yağsız Kurumadde (g 100g <sup>-1</sup> )	6,79 ± 0,03	6,85 ± 0,04	6,74 ± 0,06	6,60 ± 0,05
Yağ (g 100g <sup>-1</sup> )	0,48 ± 0,04	0,48 ± 0,04	0,48 ± 0,04	0,45 ± 0,00

Söz konusu çizelge incelendiğinde peyniraltı suyu örneklerinin protein içeriklerinin birbirlerine yakın değerler gösterdiği görülmektedir. Peyniraltı suyu ile meydana gelen besin madde kayıpları düşünüldüğünde en düşük kaybın D örneğine ait peyniraltı suyunda meydana geldiği, bunu C, B ve A örneklerinin izlediği görülmektedir. Peyniraltı sularının pH değerlerinde de bazı farklılıklar meydana gelmiş özellikle enterokok oranının yüksek olduğu D ve C örneğine ait peyniraltı suyunda pH değeri daha düşük bulunmuştur.

#### 4.13 İzmir Tulum Peyniri Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Üretilen deneme peynirlerinde *Enterococcus* ssp. içermeyen kültür kullanılarak üretilen peynir A, %5 *Enterococcus* ssp. içeren kültür kullanılarak üretilen peynir B, % 10 *Enterococcus* ssp. içeren kültür ile üretilen peynir C, % 20 *Enterococcus* ssp. içeren kültür ile üretilen peynir D harfi ile kodlanmıştır.

#### 4.13.1 Kurumadde

Bilindiği gibi peynirin kuru maddesini yağ, protein, laktoz, tuz ve mineral maddeler meydana getirdiğinden, bu bileşenlerin miktarları peynirin randımanını, besinsel değerini ve duyuşal özelliklerini etkilemektedir.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin kurumadde içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.14 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.14 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumadde içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Kuru madde (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
<b>1</b>	53,473 ± 0,09dE	52,805 ± 0,01cD	52,215 ± 0,13bD	51,842 ± 0,07aD
<b>30</b>	51,627 ± 0,10dA	50,550 ± 0,10cB	49,022 ± 0,12aA	50,007 ± 0,16bB
<b>60</b>	52,889 ± 0,12dD	49,660 ± 0,12aA	50,508 ± 0,15cC	49,996 ± 0,08bB
<b>90</b>	53,487 ± 0,03aEü	50,378 ± 0,14aB	51,996 ± 0,12Cd	51,136 ± 0,01bC
<b>120</b>	51,950 ± 0,16cB	49,822 ± 0,12bA	49,042 ± 0,15aA	49,001 ± 0,16aA
<b>150</b>	52,420 ± 0,14bC	51,998 ± 0,15bC	49,202 ± 0,17aA	49,029 ± 0,15aA
<b>180</b>	53,457 ± 0,03cE	54,287 ± 0,02bE	50,019 ± 0,03aB	50,016 ± 0,02aB
<b>Ortalama</b>	52,7587 ± 0,75	51,357 ± 1,66	50,286 ± 1,31	50,147 ± 1,00

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

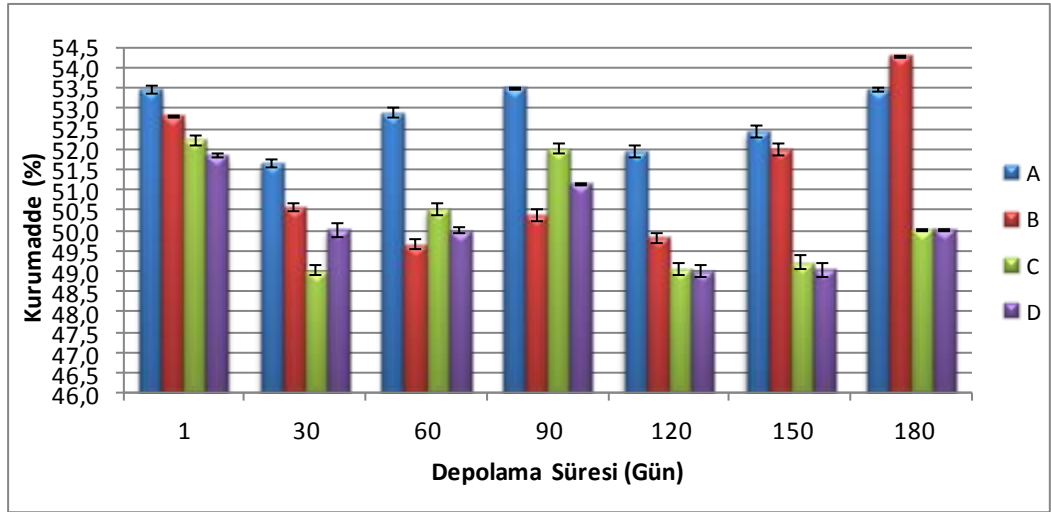
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

Peynirin kuru madde içeriği aynı zamanda peynir çeşitlerinin içerdiği kurumadde miktarları yasal düzenlemelere uygunluk göstermesi ve standart ürün elde edilmesi nedeniyle de önem taşımaktadır.



**Şekil 4.1** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kuru madde içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

Çizelge 4.14 ve Şekil 4.1 incelendiğinde İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının örneklerin % kurumadde içeriklerine etkisi ve depolama süresince meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Peynirlerin kurumadde miktarları mayalama sıcaklığı, maya miktarı, baskı ağırlığı ve süresi gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Çizelgeden de görüldüğü gibi A ile B,C,D örnekleri arasında meydana gelen farklılık kültür tipi ve oranı ile ısıtmaya bağlı olarak oluşan biyokimyasal değişikliklerden kaynaklanmaktadır.

Peynir örneklerinin % kurumadde oranlarının 49,00 ile 53,49 arasında değiştiği görülmektedir. Depolama süresince en yüksek ortalama kurumadde içeriği A kodlu örnekte belirlenmiştir. Depolamanın 1. gününde % kurumadde içeriği 51,84 ile 53,47 arasında değişirken, depolama sonunda 50,02 ile 54,29 arasında değiştiği görülmektedir. Depolama başlangıcında en yüksek kurumadde içeriği A kodlu örnekte belirlenirken, depolama sonunda B kodlu örnekte olgunlaşmanın ilerlemesiyle artış yada azalmalar saptanmıştır.

İzmir Tulum Peynirinde kurumadde miktarını Eralp (1967) % 61.81, Yaygın (1971) % 57.127, Kılıç ve Gönç (1990) % 51.87, Koca (1996) % 54.50 olarak saptamıştır.

Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde kurumadde oranı genelde azalmaktadır. Bunun nedeni suda çözünür protein ve peptidlerin salamuraya geçmesine bağlanmaktadır. Ayrıca olgunlaşma sırasında  $\alpha_{s1}$ -kazeindeki peptit bağlarının parçalanarak, oluşan yeni iyonik grupların salamuradaki suyu bağlaması ve düşük sıcaklık derecelerinde yapılan depolama sırasında proteinlerin su absorbe etme yeteneklerinin artması, peynirdeki kurumadde miktarını düşürebilmektedir (Kesenkaş, 2004).

Eralp (1967) İzmir ilinde yaptığı araştırmada İzmir Tulum Peyniri'nin ortalama kurumadde oranını % 61,00, Yaygın (1971) çeşitli illerden (İzmir, Aydın, Balıkesir, Manisa) İzmir Tulum Peyniri örneklerinin % 57,13 kurumadde belirlemiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar söz konusu çalışmalarda belirlenen kurumadde içeriklerinden düşük bulunurken, Kılıç ve Gönç (1990), Gönç vd. (1997) gibi araştırmacıların elde ettiği sonuçlara yakınlık göstermektedir.

Güler (2000) Ankara piyasasından topladığı 30 adet tulum peynirinde kurumadde miktarlarının 50,26 – 61,52 arasında değiştiğini belirlemiştir.

Arıcı ve Şimşek (1991) 4 ay depoladıkları tulum peynirlerinin kurumadde düzeylerinin arttığını belirlerken, Koca (1996) 3 ay depoladığı peynirlerin kurumadde oranlarının bazı peynir örneklerinde arttığını, bazı örneklerde ise azaldığını tespit etmiştir.

TS 11966 Salamura Tulum Peyniri (İzmir Tulum Peyniri) Standardına göre İzmir Tulum Peyniri en çok %50 nem içeriğine sahip olmalıdır. Bu açıdan üretilen peynirler standarda uygunluk göstermektedir.

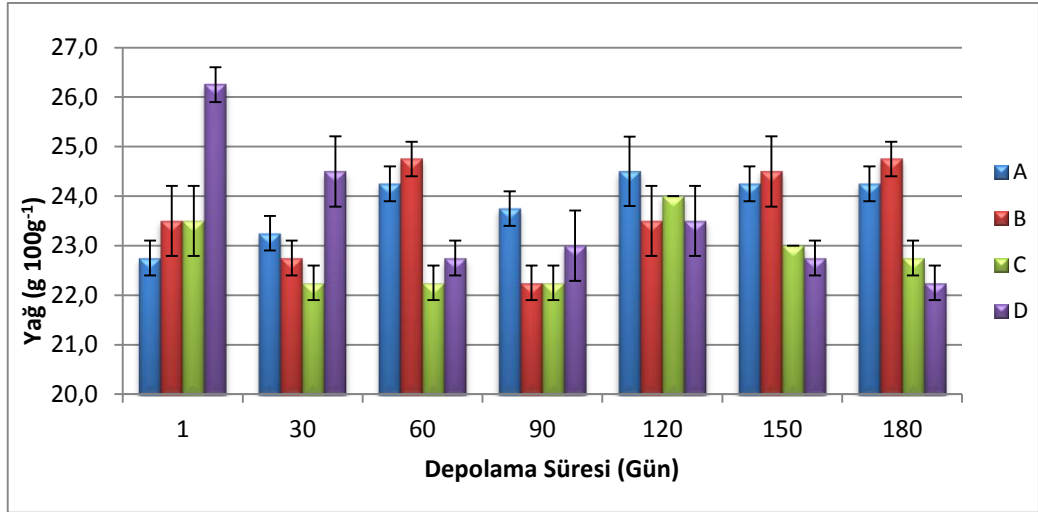
#### **4.13.2 Yağ ve kurumadde yağ**

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.13. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.15 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Yağ (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	22,75 ± 0,35A	23,50 ± 0,71AB	23,50 ± 0,71BC	24,00 ± 0,35C
30	23,25 ± 0,35abAB	22,75 ± 0,35aA	22,25 ± 0,35aA	24,50 ± 0,71bB
60	24,25 ± 0,35bBC	24,75 ± 0,35bB	22,25 ± 0,35aA	22,75 ± 0,35aA
90	23,75 ± 0,35BC	22,25 ± 0,35A	22,25 ± 0,35A	23,00 ± 0,71A
120	24,50 ± 0,70BC	23,50 ± 0,71AB	24,00 ± 0,00C	23,50 ± 0,71AB
150	24,25 ± 0,35bBC	24,50 ± 0,71bB	23,00 ± 0,00aAB	22,75 ± 0,35aA
180	24,25 ± 0,35bBC	24,75 ± 0,35bB	22,75 ± 0,35aAB	22,25 ± 0,35aA
Ortalama	23,86 ± 0,69	23,71 ± 1,03	22,86 ± 0,72	23,57 ± 1,38

a,b : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.2 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus*

ssp. kullanımının yağ içeriğine etkisi 90 ve 120. günlerde istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ), diğer günlerde ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Olgunlaşma süresinin yağ içerikleri üzerine etkisi de  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Depolamanın 1. gününde B, C ve D örneklerinin yağ içerikleri birbirine yakın değerler gösterirken (% 22.75 - 23.50), A örneğinde daha düşük bir yağ içeriği (% 22.75) saptanmıştır. Depolama süresi ilerledikçe ise peynirlerin yağ içeriklerinde düşük de olsa azalma veya artışlar meydana gelmiş, depolamanın 180. gününde en yüksek yağ içeriği B örneğinde gözlenmiş, bunu A, C ve D örnekleri izlemiştir.

Salamuralı tulum peyniri konusunda çalışan araştırmacılar Eralp (1967) söz konusu peynirlerde yağ oranının % 26.60, Yaygın (1971), % 28.70, Koca (1996) kültür kullanılmadan üretilen peynirlerde % 29.00, kültür katılarak elde edilenlerde % 28.42-31.17 arasında saptamıştır. Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar söz konusu araştırmacıların sonuçlarından düşük bulunmuştur.

Özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde olgunlaşma süresince kurumadde miktarında değişimler meydana geldiğinden, peynir bileşiminde biyokimyasal değişimler meydana gelebilmektedir. Bu yüzden yağ içeriği kurumadde içerisindeki oranları dikkate alınarak değerlendirilmektedir (Anonim, 2006).

Deneme peynirlerinin % kurumadde yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler ise Çizelge 4.16 ve Şekil 4.3.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunması % kurumadde yağ içeriğine etkisi 1., 30. ve 60. günlerde önemli ( $P<0.05$ ), diğer günlerde ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Depolama süresince yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler de  $P<0.05$  düzeyinde önemli olmuştur.

Çizelge 4.16 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumaddede yağ içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

% Kurumaddede Yağ (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	42,55 ± 0,59aA	44,50 ± 1,34aA	45,01 ± 1,46aBC	46,69b ± 0,75bD
30	45,04 ± 0,77aB	45,01 ± 0,61aAB	45,40 ± 0,83aBC	46,00 ± 1,57bCD
60	45,84 ± 0,56aBC	49,84 ± 0,59bC	44,05 ± 0,83aAB	45,50 ± 0,78aAB
90	44,40 ± 0,69B	44,17 ± 0,58A	42,79 ± 0,59A	44,98 ± 1,39A
120	47,16 ± 1,22C	47,17 ± 1,30B	48,93 ± 0,15D	47,96 ± 1,29BCD
150	46,26 ± 0,80BC	47,12 ± 1,22B	46,75 ± 0,16C	46,40 ± 0,87ABC
180	45,36 ± 0,69BC	45,59 ± 0,64AB	45,48 ± 0,68BC	44,49 ± 0,72A
Ortalama	45,23 ± 1,53	46,20 ± 2,04	45,49 ± 1,97	46,99 ± 2,33

a,b : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

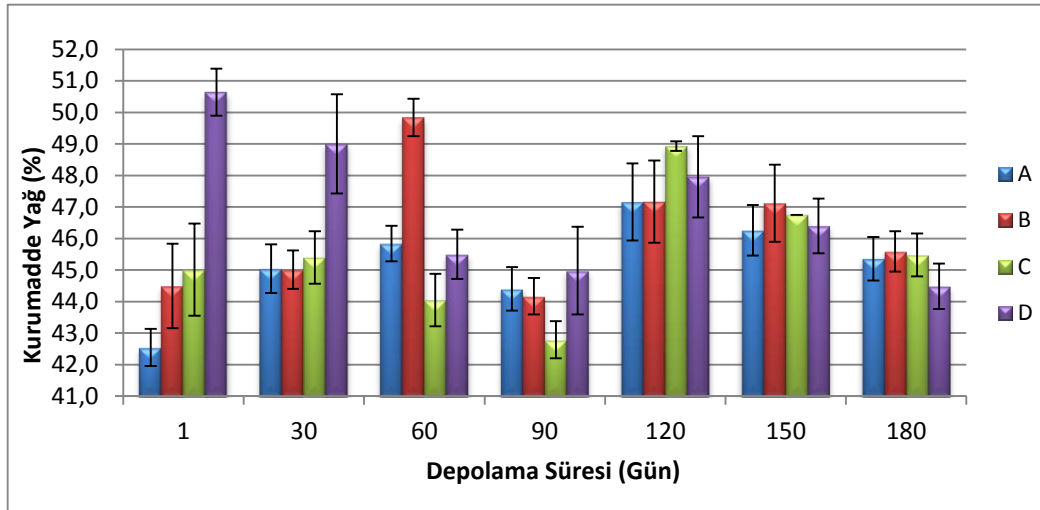
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.3 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumaddede yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Söz konusu Çizelge incelendiğinde peynir örneklerinin kurumaddede yağ içerikleri depolamanın 1. gününde % 42,55 – 50,54 arasında değişirken, depolamanın 180. gününde % 44,49 – 45,59 arasında değişmiştir.

Salamuralı Peynir Standardı (TS 11966)'nda tam yağlı olanlarda kurumaddede en az % 45, yağlılarda % 30, yarım yağlılarda % 20, yağsızlarda % 20'den az süt yağı olması gerektiği bildirilmektedir. Peynir örneklerinin depolama sonundaki kurumaddede yağ değeri açısından A,B,C örneklerinin tam yağlı, D örneğinin ise yağlı tip peynir sınıfına girdiği görülmektedir.

A, B ve C örneklerinde peynirlerinin % kurumaddede yağ değerlerinin olgunlaşma süresince düzensiz artış ve azalmalar meydana gelmiştir. Bu durum peynir örneklerinin kurumadde miktarlarında meydana gelen değişim ve farklılıktan kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Tulum peyniri konusunda çalışan Karabrahimoğlu ve Üçüncü (1988), Arıcı ve Şimşek (1991) depolama süresince örneklerin yağ miktarlarının arttığını buna karşılık Şahin (1980) ile Koca (1996) azaldığını belirlemiştir. Elde edilen sonuçlar söz konusu çalışmalarla uyum göstermektedir.

#### **4.13.3 Tuz ve kurumaddede tuz**

Tuz, peynirin dayanıklılığını arttırmakta, ürüne özgü tadını vermekte ve randıman üzerinde etkili olan tuz pek çok peynirin yapımında kullanılmaktadır (Akbulut ve ark., 1996; Karagözlü et al., 2008).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin tuz içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.17 ve Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Çizelge 4.17 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tuz içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

Tuz ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	2,93 $\pm$ 0,16aA	3,40 $\pm$ 0,16bA	3,45 $\pm$ 0,09bA	4,33 $\pm$ 0,17cA
30	4,33 $\pm$ 0,17B	5,03 $\pm$ 0,17B	4,21 $\pm$ 0,33B	4,57 $\pm$ 0,16AB
60	4,68 $\pm$ 0,00aC	5,21 $\pm$ 0,07bBC	4,56 $\pm$ 0,13aC	4,69 $\pm$ 0,01aB
90	5,23 $\pm$ 0,12abD	5,38 $\pm$ 0,00bC	5,15 $\pm$ 0,00aD	5,62 $\pm$ 0,00cC
120	5,38 $\pm$ 0,00aDE	5,38 $\pm$ 0,00aC	5,38 $\pm$ 0,00aDE	5,74 $\pm$ 0,16bC
150	5,53 $\pm$ 0,13aEF	5,61 $\pm$ 0,00aD	5,61 $\pm$ 0,00aE	5,85 $\pm$ 0,00bC
180	5,71 $\pm$ 0,01aF	5,67 $\pm$ 0,06aD	5,64 $\pm$ 0,01aE	5,86 $\pm$ 0,01bC
Ortalama	4,83 $\pm$ 0,93	5,10 $\pm$ 0,76	4,86 $\pm$ 0,79	5,34 $\pm$ 0,65

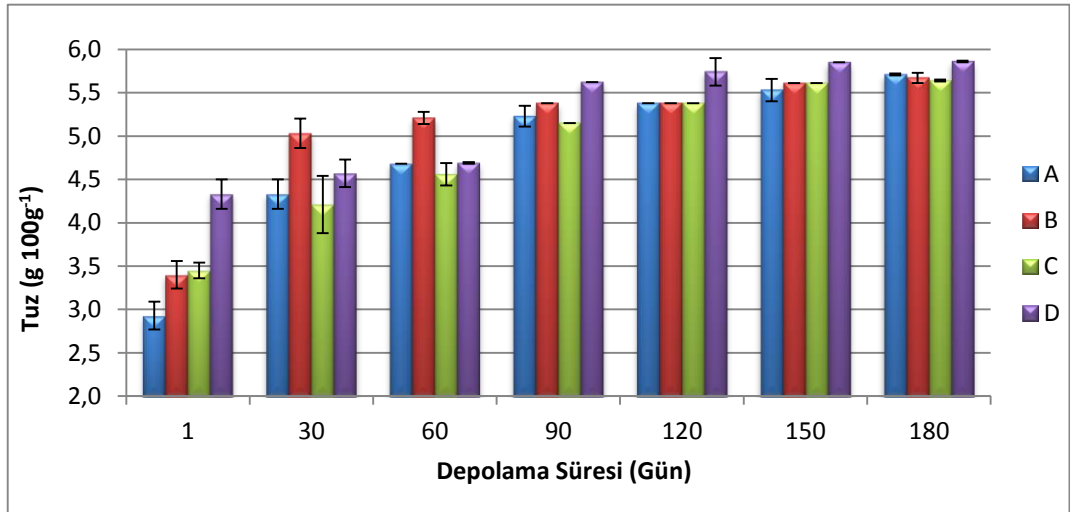
a,b,c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E,F : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.4 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının tuz oranı üzerine etkisi yalnızca 30. günde önemsiz ( $P>0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ayrıca olgunlaşma süresince peynir örneklerinin tümünde meydana gelen tuz içeriklerinin değişimi de istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.17 incelendiğinde depolamanın 1. gününde en yüksek tuz içeriğine D örneğinin sahip olduğu (%4.33) , bunu sırasıyla C (% 3,45), B (% 3,40), ve A (% 2,43) örneklerinin izlediği görülmektedir. Depolamanın 180. gününde ise en yüksek tuz içeriği yine D (% 5,86) örneğinde belirlenmiş, bunu A (% 5,71), B (% 5,7) ve C (% 5,64) örnekleri izlemiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi depolama sonunda örnekler arasındaki % tuz içeriğindeki farklılıklar depolama başlangıcına göre azalmıştır ( $P<0.05$ ).

İzmir Tulum peyniri ile yapılan çalışmalarda peynir örneklerinde % tuz miktarlarını Eralp (1967) 5.96, Yaygın (1971) 5.81, Kılıç ve Gönç (1990) 4.94, Koca (1996) 2.50 olarak belirlenmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz % tuz sonuçları Eralp (1967), Yaygın (1971) ve Kılıç ve Gönç (1990) ile uyumluluk gösterirken, Koca (1996), Bayar (2008), Arslaner (2008) tarafından elde edilen sonuçlardan yüksek bulunmuştur.

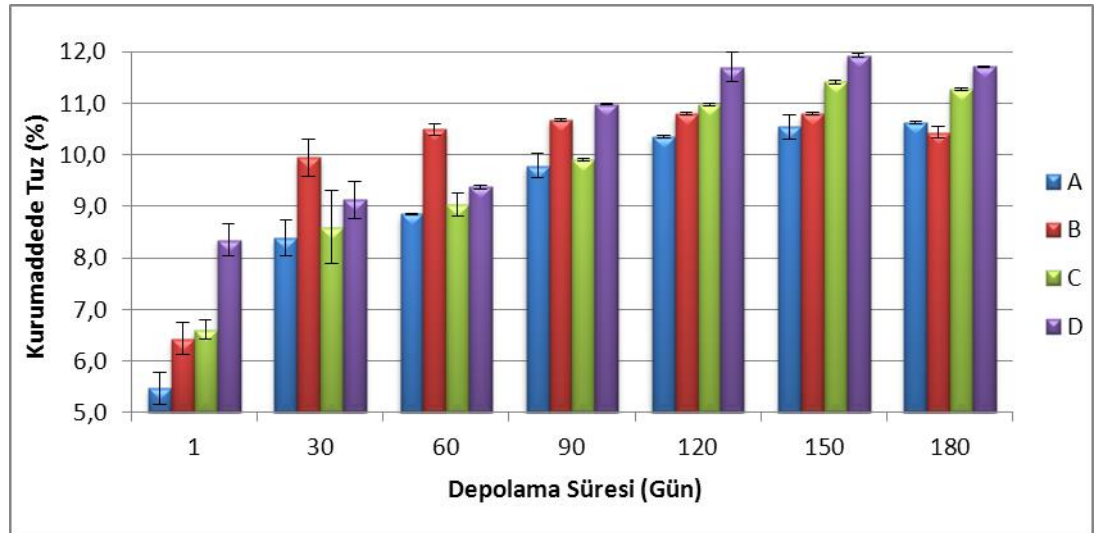
Peynir örneklerinin tuz içerikleri üzerine olgunlaşma süresinin etkisi istatistiksel açıdan değerlendirilecek olursa; olgunlaşma ilerledikçe düzenli olarak tuz oranının arttığı görülmektedir. Ancak bu artışlar depolama başlangıcında daha hızlı seyrederken, depolama ilerledikçe azalmaya başlamıştır. Tuz miktarının olgunlaşmanın sonuna doğru yavaş yavaş yükselmesi, peynir kitlesindeki nem oranının azalmasına, ortamın sıcaklığına, pH'sına ve protein oranlarında meydana gelen artış yada azalmaların etkili olmasına bağlanabilir (Ateş ve Patır, 2001).

Yağ içeriğinde olduğu gibi tuz içerikleri de kurumadde miktarına göre değerlendirilmektedir. Deneme peynirlerinin % kurumadede tuz içerikleri Çizelge 4.18. ve Şekil 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.18 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumadede tuz içerikleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

% Kurumadede Tuz	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	5,47 ± 0,30aA	6,43 ± 0,31bA	6,61 ± 0,18bA	8,35 ± 0,32cA
30	8,39 ± 0,35B	9,95 ± 0,36B	8,60 ± 0,70B	9,13 ± 0,36B
60	8,85 ± 0,02aB	10,49 ± 0,12cC	9,03 ± 0,23abB	9,38 ± 0,04bB
90	9,79 ± 0,23aC	10,68 ± 0,03bC	9,91 ± 0,02aC	10,98 ± 0,01bC
120	10,36 ± 0,03aD	10,80 ± 0,03bC	10,97 ± 0,03bD	11,70 ± 0,29cD
150	10,54 ± 0,23aD	10,80 ± 0,03aC	11,41 ± 0,04bD	11,93 ± 0,04cD
180	10,62 ± 0,02bD	10,44 ± 0,11aC	11,28 ± 0,02cD	11,71 ± 0,02dD
Ortalama	9,15 ± 1,78	9,94 ± 1,52	9,68 ± 1,69	10,46 ± 1,42

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.5 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kurumadede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan kültürde probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının %

kurumaddede tuz içeriği üzerine etkisi 30. günde etkisiz ( $P>0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ayrıca, depolama süresince meydana gelen % kurumaddede tuz değişimleri de önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Peynir örneklerinin % kurumaddede tuz içerikleri, tuz içeriğine benzer bir değişim göstermiştir ve aynı şekilde ilk günlerde hızlı ilerleyen günlerde yavaş bir artış meydana gelmiştir. Depolama başında ve sonunda en yüksek değerler D örneğinde belirlenirken, bunu C, B ve A örnekleri izlemiştir.

Salamuralı Tulum Peyniri Standardında 1. sınıf peynirlerde kurumaddede en çok % 6,2; 2. sınıf peynirlerde ise % 10 bulunmasına izin verilmektedir. Araştırmada elde ettiğimiz sonuçlar peynir örneklerinin depolama süresi sonunda 2. sınıf peynir aralığında olduğu görülmektedir.

Yılmaz et al. (2004), Güler (2004), Güler ve Uraz (2004) ve Hayaloglu et al. (2007a) tarafından Tulum peynirlerinde tespit edilen ortalama değerlerden yüksek; Ceylan (1998), Eralp (1967), Yaygın (1971), Koca (1996) gibi araştırmacıların değerleriyle uyumluluk göstermektedir.

Ateş ve Patır (2001) farklı starter kültür kombinasyonları kullanarak ürettiği tulum peynirlerinde tuz miktarlarının sürekli artış gösterdiğini belirlemiştir. Çalışmamızda meydana gelen tuz artışları Patır (1987), Arıcı ve Şimşek (1991), Öztürk ve Nazlı (1996) gibi araştırmacıların bulguları ile de uyumluluk göstermektedir.

#### 4.13.4 pH Değerı

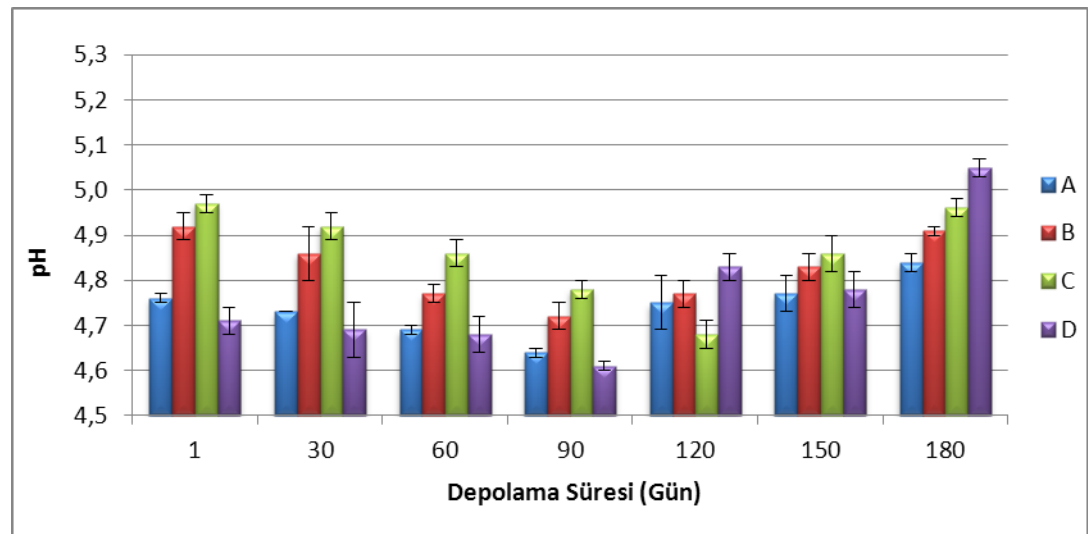
Süt ve süt ürünlerinde aktüel asitlik olarak bilinen pH değerini serbest ve aktif hidrojen iyonu ile dengede bulunan diğer bileşikler meydana getirir. Bu tip bileşikleri; serbest bazik bileşikler, serbest nötral tampon bileşikleri, proteine bağlı asidik ve bazik gruplar ile serbest organik asitler oluşturabilmektedir (Öztek, 1985).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peynirlerinin pH değerleri ve bu değerlerde depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.19. ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.19 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin pH değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler

pH	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	4,76 ± 0,01bBC	4,92 ± 0,02cD	4,97 ± 0,01dF	4,71 ± 0,01aB
30	4,73 ± 0,00bBC	4,86 ± 0,01cC	4,92 ± 0,01dE	4,69 ± 0,00aB
60	4,69 ± 0,01aAB	4,77 ± 0,01bB	4,86 ± 0,01cC	4,68 ± 0,01aB
90	4,64 ± 0,01aA	4,72 ± 0,01bA	4,78 ± 0,01cB	4,61 ± 0,04aA
120	4,75 ± 0,01bBC	4,77 ± 0,00cB	4,68 ± 0,01aA	4,83 ± 0,01dC
150	4,77 ± 0,06C	4,83 ± 0,04C	4,86 ± 0,01D	4,78 ± 0,04C
180	4,84 ± 0,01aD	4,91 ± 0,01bD	4,96 ± 0,01bF	5,05 ± 0,03cD
<b>Ortalama</b>	4,74 ± 0,06	4,82 ± 0,07	4,87 ± 0,10	4,76 ± 0,14

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.6 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler

Peynir teknolojisinde pratik olarak olgunlaşma aşamalarının kontrolü pH tespiti ile yapılmaktadır. Tüm peynir çeşitlerinde olduğu gibi İzmir Tulum Peynirlerinde de fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin açıklanmasında pH değeri bir kriter olarak kullanılmaktadır.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının peynirlerin pH değerlerine etkisi, yalnızca 150. günde önemsiz ( $P>0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Depolama süresinin pH düzeylerine etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Depolama başlangıcında pH değerleri yüksekten düşüğe C, B, A ve D olarak sıralanırken, depolama sonunda bu sıralama D, C, B ve A şeklinde olmuştur. Tulum peyniri örneklerinde A,B ve D örneklerini 90. güne kadar, C örneği ise 120. güne kadar düşüş göstermiş, bu sürelerden sonra ise tekrar artış olmuştur. Olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle pH değerlerinde meydana gelen artışın, mayalar tarafından laktik asidin parçalanması ve serbest aminoasitlerin deaminasyonu ile meydana gelen amonyak ve benzeri bileşiklerden kaynaklandığı belirtilmektedir. (Schlesser et al. 1992; Coşkun 1995; Ayar, 1996; Azarina et al. 1997).

Salamuralı tulum peynirlerinde pH değerini Koca (1996) 4.64-4.93, Gökova (1980) 5.37-5.03 olarak saptamıştır. Koçak (1996) Ankara piyasasından temin ettiği 42 adet tulum peynirinde pH değerlerinin 4.03-5.22 arasında değiştiğini ve ortalama 4,76 olduğunu belirlemiştir. Güler (2000) ise Ankara piyasasından topladığı 30 adet tulum peynirinde pH aralığının 4,28 – 5,25 değiştiğini saptamıştır.

Ergüllü (1980), Gahun (1981), Demiryol (1983), Demirci (1987), Koca (1996), Ateş ve Patır (2001) çeşitli peynirlerinin pH değerinin depolama süresince düştüğünü belirtirken, çalışmamızda elde edilenlere benzer sonuçlar Karaibrahimoğlu ve Üçüncü (1988) tarafından da bulunmuştur. Bu sonuçlara karşın Güven (1993) yaptığı çalışmada tulum peynirlerinde pH'nın depolamanın 5. ayına kadar giderek düştüğünü, 7. ayında ise tekrar yükselmeye başladığını belirlemiştir.

#### 4.13.5 Titrasyon asitliği / % Laktik asit değeri

Peynirlerdeki asitliğin büyük bir kısmı azotlu maddelerden, az bir kısmı da olgunlaşma sırasında laktik asit ve proteolitik bakterilerin faaliyetleri sonucu laktoz ve azotlu maddelerin parçalanması ile meydana gelen organik asitlerden ileri gelmektedir. Peynirlerin olgunlaşmasında rol oynayan süt asidi fermantasyonu kazana alınan sütte başlamakta ve üretimin diğer aşamalarında da devam etmektedir.

Araştırmamızda retilen İzmir Tulum Peynirlerinin titrasyon asitliği değerleri ve 180 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler izelge 4.20. ve Şekil 4.7.'de verilmiştir.

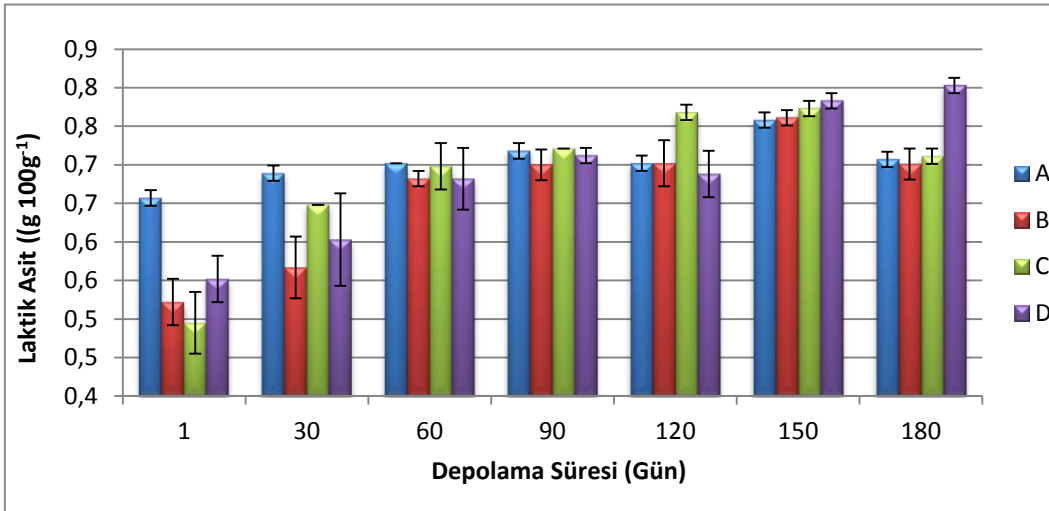
Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri retiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının % laktik asit miktarları üzerine etkisi 1., 30., 120. ve 180. günlerde önemli bulunurken, diğer günlerde önemsiz bulunmuştur. ( $P>0.05$ ). Depolama süresince % laktik asit içeriklerinde meydana gelen değişimler ise A rneğinde nemsiz ( $P>0.05$ ), diğer örneklerde ise önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Üretilen İzmir Tulum Peyniri rneklerinin depolama başlangıcındaki % laktik asit miktarları düşükten yükseğe doğru C, D, B, A Şeklinde, depolamanın sonunda ise B, A, C ve D Şeklinde sıralanmıştır. A ve D örneklerinde 90. güne kadar düzenli artış, 90. günden sonra düzensiz artış yada azalmalar gözlemlenmiştir ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.20 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin laktik asit değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )

Laktik Asit (%)	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	0,66 ± 0,01b	0,52 ± 0,03aA	0,450 ± 0,04aA	0,55 ± 0,01aA
30	0,69 ± 0,01 c	0,57 ± 0,04aA	0,65 ± 0,00bcB	0,60 ± 0,03abB
60	0,70 ± 0,00	0,68 ± 0,01B	0,70 ± 0,03C	0,68 ± 0,01C
90	0,72 ± 0,01	0,70 ± 0,02B	0,72 ± 0,00C	0,71 ± 0,01C
120	0,70 ± 0,01ab	0,70 ± 0,03abB	0,77 ± 0,01bD	0,69 ± 0,04aAB
150	0,76 ± 0,01	0,76 ± 0,01B	0,77 ± 0,01D	0,78 ± 0,01D
180	0,71 ± 0,01a	0,70 ± 0,02aC	0,71 ± 0,01aC	0,80 ± 0,01bD
<b>Ortalama</b>	0,70 ± 0,04	0,66 ± 0,08	0,69 ± 0,9	0,67 ± 0,09

a,b,c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.7 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin laktik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )



İzmir Tulum Peynirlerinde % laktik asit cinsinden asitlik derecelerini Eralp (1967) 2.6, Yaygın (1971) 1.54, Kılıç ve Gönç (1990) 1.6, Koca (1996) 0.929 olarak belirlemiştir.

Koca (1996), Ateş ve Patır (2001) farklı kültürlerle ürettiği tulum peynirlerinin asitlik derecelerinin depolama süresince azaldığını belirlemiştir. Oysa Arıcı ve Şimşek (1991) depolama sırasında tulum peynirlerinde asitliğin arttığını, en fazla artışın da geleneksel tulumlarda olduğunu bildirmişlerdir. Yine Güven (1993) yaptığı çalışmada 7 ay boyunca depoladığı tulum peyniri örneklerinin asitlik derecelerinin giderek arttığını saptamıştır.

#### 4.13.6 Toplam azot (TN) ve protein

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.21. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir.

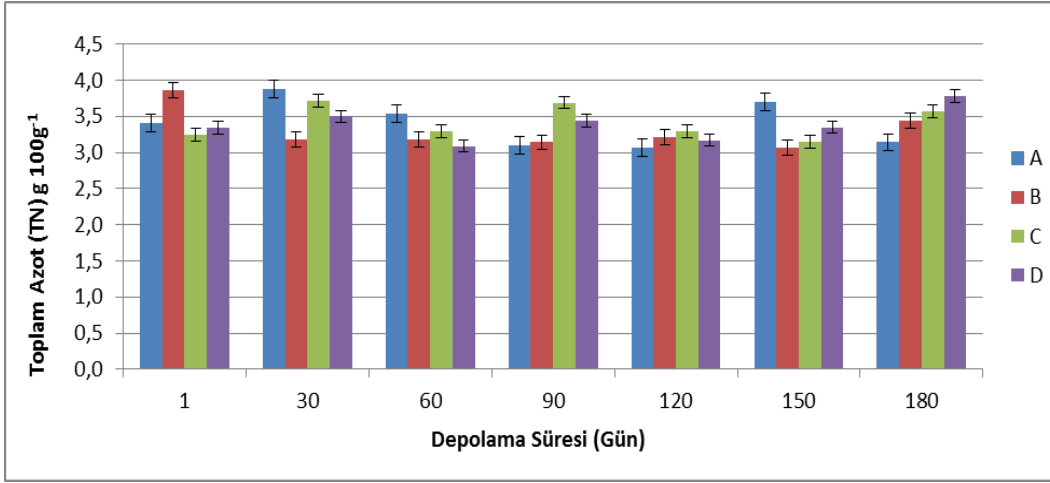
Çizelge 4.21 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Toplam Azot (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	3,41 ± 0,26bB	3,86 ± 0,06cC	3,24 ± 0,09aB	3,34 ± 0,30abB
30	3,88 ± 0,13cD	3,18 ± 0,02aA	3,72 ± 0,01cD	3,50 ± 0,06bB
60	3,54 ± 0,09cB	3,18 ± 0,02abA	3,30 ± 0,05bB	3,09 ± 0,03aA
90	3,10 ± 0,04aA	3,14 ± 0,04aA	3,69 ± 0,01cD	3,44 ± 0,05bB
120	3,07 ± 0,04aA	3,21 ± 0,11bA	3,29 ± 0,06bB	3,17 ± 0,01bA
150	3,70 ± 0,01cC	3,06 ± 0,06aA	3,15 ± 0,15aA	3,35 ± 0,07bB
180	3,14 ± 0,04aA	3,44 ± 0,03bB	3,57 ± 0,40bcC	3,78 ± 0,04cC
Ortalama	3,41 ± 0,09	3,30 ± 0,05	3,42 ± 0,11	3,38 ± 0,08

a,b,c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının % toplam azot miktarları üzerine etkisi ve depolama süresince meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Depolama başlangıcındaki % toplam azot içerikleri 3.24 – 3.86 arasında değişirken, depolama sonunda 3,14 – 3,78 arasında değişmiştir. Ortalama değerler açısından değerlendirme yapıldığında ise en yüksek % toplam azot miktarının C örneğinde (3.42) belirlendiği, bunu A (3.41), D (3.38) ve B (3.30) örneklerinin izlediği görülmektedir.



**Şekil 4.8** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam azot değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Depolama başlangıç ve sonu değerler karşılaştırıldığında ise A ve B örneklerinde azalma belirlenirken, C ve D örneklerinde artış meydana gelmiştir.

Öner vd. (2005) starter kültür kullanarak ürettikleri tulum peynirlerinde toplam azot içeriğinde depolama süresince azalma belirlerken, Koca (1996) kullanılan kültür tipine bağlı olarak 5,77 ile 6,66 arasında olduğunu ve depolama süresince azalma yada artışlar meydana geldiğini saptamıştır.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam protein değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler ise Çizelge 4.22. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.22 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin protein değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Protein (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	21,75 ± 1,60bB	24,60 ± 0,38cD	20,65 ± 0,59aB	21,28 ± 0,19abB
30	24,73 ± 0,84dD	20,26 ± 0,16aB	23,74 ± 0,10cE	22,33 ± 0,38bC
60	22,54 ± 0,56cBC	20,31 ± 0,01abB	21,04 ± 0,30bC	19,73 ± 0,18aA
90	19,77 ± 0,28aA	20,01 ± 0,21abA	23,50 ± 0,08cD	21,90 ± 0,33bC
120	19,60 ± 0,29aA	20,45 ± 0,64cC	20,97 ± 0,39cB	20,23 ± 0,11bAB
150	23,61 ± 0,07cC	19,51 ± 0,39aA	19,83 ± 0,96aA	21,38 ± 0,17bB
180	20,01 ± 0,21aA	21,95 ± 0,18bC	22,72 ± 0,50cD	24,08 ± 0,21dD
Ortalama	21,72 ± 0,55	21,01 ± 0,28	21,78 ± 0,42	21,56 ± 0,22

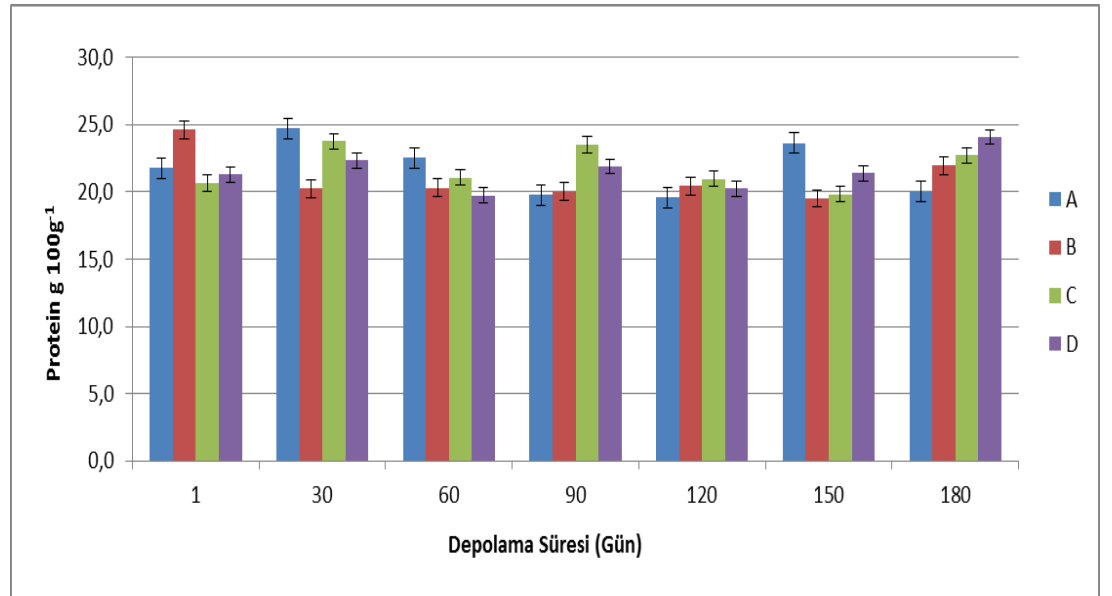
a,b,c,d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E :Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.9 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin protein içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının % protein miktarları üzerine etkisi ve depolama süresince meydana gelen değişimler istatistiksel olarak nemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Depolama başlangıcındaki % protein içerikleri 20,65 – 24,60 arasında değişirken, depolama sonunda 20,21 – 24,088 arasında değişmiştir. Ortalama değerler açısından değerlendirme yapıldığında ise en yüksek % protein miktarının % toplam azot oranına paralel olarak C örneğinde (21,78) belirlendiği, bunu A (21,72), D (21,56) ve B (21,01) örneklerinin izlediği görülmektedir. Depolama başlangıç ve sonu değerler karşılaştırıldığında ise A ve B örneklerinde azalma belirlenirken, C ve D örneklerinde artış meydana gelmiştir.

Güven ve Konar (1994) taze tulum peynirlerinde protein oranını % 19.32, Gönç (1974) Dilve Tulum Peyniri'nde % 25,98, Arıcı ve Şimşek (1991) starter kültür kullanarak ürettiği tulum peynirlerinde % 24,03 – 25,13, Kurt vd. (1991) Erzincan Tulum Peynirinde % 18,52, Kılıç vd. (1998) İzmir Tulum Peyniri'nde 15,82 olarak belirlemiştir.

#### 4.13.7 Suda çözünen azot (WSN)

Suda çözünen azot oranı peynirde olgunlaşma derecesinin bir göstergesi olup, peyniraltı suyu proteinlerini, proteaz peptonları, kazeinin parçalanması sonucu oluşan küçük ve orta molekül ağırlıklı peptitleri içermektedir (McSweeney and Fox, 1997; Pavia et al. 2000; Arslaner, 2008).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin suda çözünen azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.23 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.23 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin suda çözünen azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

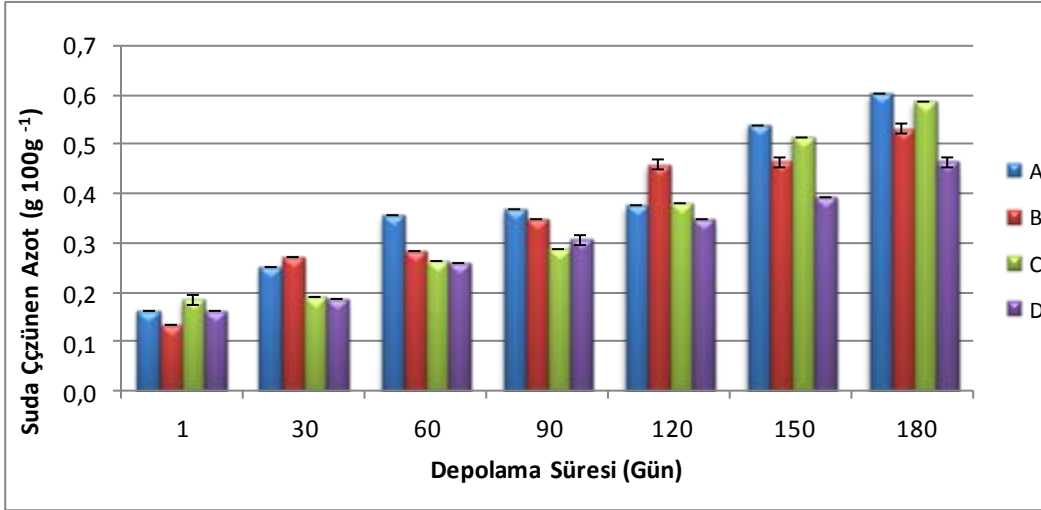
Suda Çözünen Azot (g 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	0,163±0,00bA	0,136±0,00aA	0,186±0,01aA	0,162±0,00aA
30	0,253±0,00bB	0,271±0,00bB	0,191±0,00aA	0,185±0,00aA
60	0,356±0,00C	0,284±0,00B	0,265±0,00B	0,259±0,01B
90	0,370±0,01C	0,349±0,00C	0,289±0,00B	0,307±0,00AB
120	0,376±0,00C	0,459±0,01D	0,382±0,00C	0,347±0,00B
150	0,538±0,00bD	0,465±0,01aD	0,514±0,00bD	0,393±0,00aB
180	0,602±0,00cE	0,530±0,01bE	0,585±0,00cE	0,464±0,01aC
Ortalama	0,380±0,01	0,356±0,01	0,345±0,01	0,302±0,01

a,b,c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E:Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

İzmir Tulum Peynirlerinin üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranda *Enterococcus* ssp. bulunmasının suda çözünen azot içeriklerine etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05).

Kılıç ve Gönç (1990) piyasadan topladıkları İzmir Tulum Peynirlerinin suda çözünen azot değerlerinin ortalama % 0,55 olarak belirlerken, Öner vd. (2002) % 0,98 olarak saptamıştır.

Olgunlaşma süresinin ilk gününde peynir örneklerinde tespit edilen en yüksek suda çözünen azot oranı % 0,186 ile C örneğinde, en düşük suda çözünen azot oranı da % 0,136 ile B örneğinde tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresinin 180. gününde peynir örneklerinde en yüksek değer % 0,602 ile A örneğinde, en düşük değer de % 0,464 ile D örneğinde belirlenmiştir. Ortalama suda çözünen azot içeriklerine bakıldığında ise en yüksek A örneğinde saptanırken, bunu B, C ve D örnekleri izlemiştir.



Şekil 4.10 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin suda çözünen azot değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (g 100g<sup>-1</sup>)

Bazı örneklerde depolama süresince yüksek nem kaybı meydana gelmesi, kurumaddede tuz oranındaki nispi artışa neden olmuş ve muhtemelen örneklerin su aktivitesinde düşüş meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak da starter kültür aktivitesinde azalmayla birlikte bu örneklerde daha zayıf proteoliz gelişmiş olabilir. Peynir olgunlaşmasında primer proteolizin başlıca etkeni olarak gösterilen kalıntı rennet oranının örnekler arasında farklılık göstermesi de peroteoliz oranlarındaki farklılığın nedeni olabilir (Volikakis et al. 2004; Arslaner, 2008).

Araştırmada elde edilen suda çözünen azot oranları Güven ve Konar (1994), Çakmakçı ve Sengül (1998), Güler and Uraz (2004) ve Arslaner (2008) gibi araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Tulum peyniri örneklerinin suda çözünen azot oranları üzerinde olgunlaşma süresinin etkisi de etkili bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Peynir örneklerine ait suda çözünen azot oranları olgunlaşma süresince artış göstermiş, en yüksek artış ise A örneğinde bulunmuştur. Benzer sonuçlar Şengül (1995), Ceylan (1998) ve Arslaner (2008) tarafından da rapor edilmiştir.

#### 4.13.8 Olgunlaşma indeksi

Suda çözünen azot (WSN) peynirde proteoliz oranının belirlenmesinde kullanılan önemli parametrelerdir.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin toplam azot değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.24. ve Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.24 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (%)

Olgunlaşma İndeksi (%)	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	4,87 ± 0,49bA	3,59 ± 0,15aA	5,83 ± 0,27cA	4,82 ± 0,70 bA
30	6,61 ± 0,10bB	8,66 ± 0,11cB	5,91 ± 0,08abA	5,36 ± 0,16aAB
60	10,20 ± 0,38bC	9,06 ± 0,16bBC	8,14 ± 0,00aB	8,49 ± 0,27aB
90	12,28 ± 0,25cD	11,28 ± 0,24bC	8,93 ± 0,09aBC	9,07 ± 0,04aBC
120	12,30 ± 0,37bD	14,52 ± 0,29cD	11,79 ± 0,11abC	11,08 ± 0,21aC
150	14,72 ± 0,17bE	15,21 ± 0,54bcE	16,80 ± 0,92cD	11,88 ± 0,10aC
180	19,46 ± 0,09cF	15,61 ± 0,39bE	16,92 ± 0,18bcD	12,46 ± 0,30aD
Ortalama	11,49 ± 0,26	11,13 ± 0,27	10,63 ± 0,24	9,02 ± 0,25

a,b,c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A,B,C,D,E,F : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

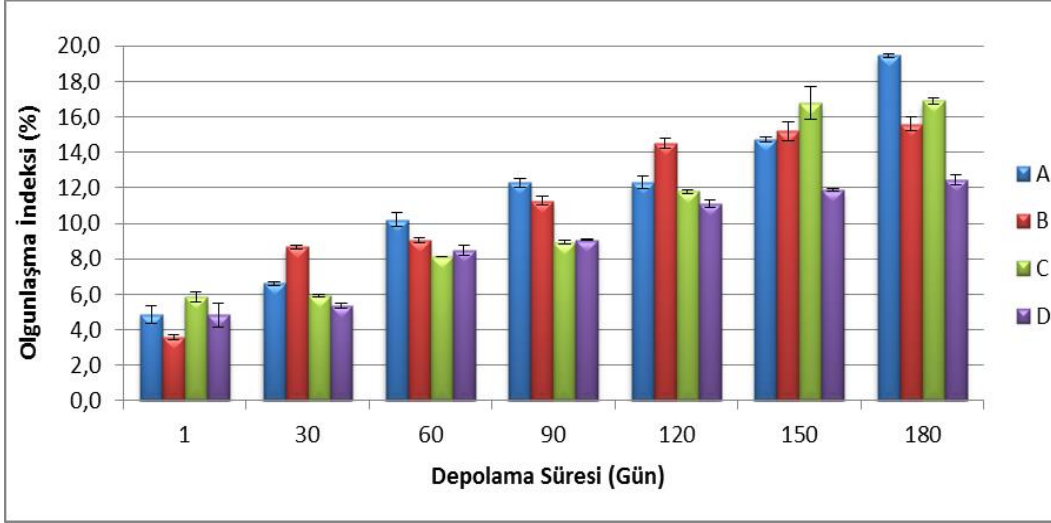
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

İzmir Tulum Peynirlerinin üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranda *Enterococcus* ssp. bulunmasının olgunlaşma indeksi değerlerine etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05).



**Şekil 4.11** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler

İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerleri özellikle suda çözünen azot miktarlarındaki artışa da bağlı olarak düzenli olarak artış göstermiştir. Olgunlaşma süresinin ilk gününde peynir örneklerinde tespit edilen olgunlaşma indeksi değerleri 3,59 – 4,87 arasında değişirken, depolama sonunda 12,46 – 19,46 arasında değişim göstermiştir. Ortalama olgunlaşma indeksi ise en yüksek A örneğinde (11,49) saptanırken, bunu B (11,13), C (10,63) ve D (9,02) örnekleri izlemiştir.

İzmir Tulum Peynirleri ile yaptıkları piyasa araştırmasında ortalama olgunlaşma indeksi değerini Öner vd. (2002) % 26,51 olarak belirlerken, Koçak vd. (1996) % 15,64 olarak belirlemiştir.

#### 4.13.9 Serbest yağ asitleri değeri

Peynirin olgunlaşmasında glikoliz, proteoliz ve lipoliz gibi 3 temel biyokimyasal olay gerçekleşmektedir. Olgunlaşma sırasında, özellikle mikroorganizma kaynaklı hücre içi ve dışı enzimler ham peynirdeki besin unsurlarını çeşitli şekil ve düzeyde sentezlemekte ve bu sentezleme sonucu oluşan farklı tip ve düzeylerdeki ürünler peynirin kendine özgü lezzet ve tekstürünü oluşturmaktadır. Peynirin lezzeti ve kalitesi, bu reaksiyon ürünlerinin



konsantrasyonları ve oranlarına bağılı olarak değişiklik göstermektedir. Peynirin olgunlaşması süresince devam eden lipoliz sonucunda, peynirin tat ve aromasında rol oynayan serbest yağ asitleri meydana gelmekte, söz konusu bu serbest yağ asitleri de ketonlar, esterler v.b. gibi aroma maddelerinin öncüsü olarak görev yapmaktadır (Kavas, 2011).

Peynirin olgunlaşması sırasında, yağın bir kısmı hidrolize olmaktadır. Hidrolitik ürünler arasında en büyük öneme, bütirik, kaproik, kaprilik ve kaprik asitleri içerisinde alan suda eriyen ve su buharı ile uçan uçucu yağ asitleri sahiptir. Asetik ve propiyonik asitler hem yağın hidrolizi hem de laktat fermentasyonu sonucu meydana gelmekte ve bunlar da miktar olarak yağ asitleri arasında dikkate alınması gereken bileşenleri oluşturmaktadır. 4'den 16 karbonluya kadar olan serbest yağ asitleri peynirin aroması üzerinde önemli etkiye sahiptir (Ayar ve Akyüz, 2003). Lipoliz derecesini belirlemek için kullanılan yöntemlerden birisi olan toplam serbest yağ asitleri değeri (ADV = Acid Degree Value) 100g süt yağında bulunan serbest yağ asitlerini nötralize etmek için gerekli olan alkalinin eşdeğer miktarı olarak tanılanmaktadır (Kesenkaş and Akbulut, 2008; Yerlikaya, 2008).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin serbet yağ asitleri değeri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.25. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda; İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının serbest yağ asitleri değeri etkisi 1., 30. ve 90. günlerde önemli ( $P<0.05$ ), diğer günlerde önemsiz olduğu saptanmıştır. Serbest yağ asitleri miktarı üzerine olgunlaşma süresi de  $P<0.05$  düzeyinde etkili bulunmuştur.

Çizelge 4.25 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin serbest yağ asitleri değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (mg KOH 100g<sup>-1</sup>)

Serbest Yağ Asitleri Değeri (mg KOH 100g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	1,37 ± 0,05aA	1,47 ± 0,01bA	1,51 ± 0,04bA	1,57 ± 0,05cA
30	1,78 ± 0,05aB	1,89 ± 0,08aB	2,44 ± 0,11bB	2,22 ± 0,05aB
60	2,26 ± 0,05C	2,31 ± 0,01C	2,28 ± 0,04C	2,29 ± 0,02B
90	2,26 ± 0,06aC	2,38 ± 0,02abC	2,50 ± 0,07bC	2,54 ± 0,01bC
120	2,69 ± 0,05D	2,55 ± 0,06D	2,67 ± 0,08D	2,68 ± 0,07D
150	2,73 ± 0,23D	2,75 ± 0,01E	2,76 ± 0,03D	2,78 ± 0,06D
180	3,53 ± 0,14E	3,48 ± 0,04F	3,56 ± 0,06E	3,57 ± 0,07E
<b>Ortalama</b>	2,38 ± 0,69	2,40 ± 0,61	2,53 ± 0,59	2,30 ± 0,63

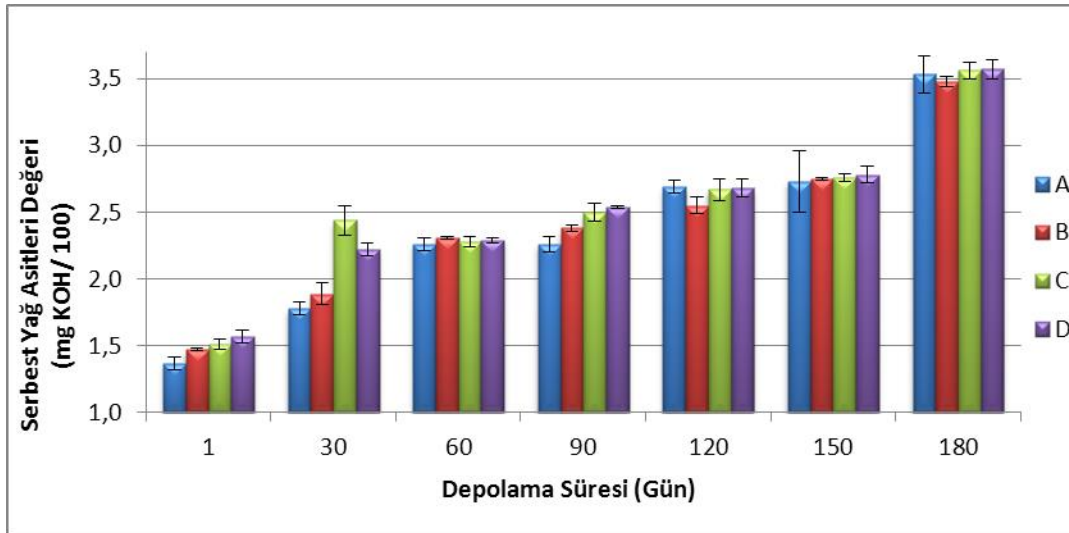
a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.12 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin serbest yağ asitleri değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişiklikler (mg KOH 100g<sup>-1</sup>)

Olgunlaşmanın 1. gününde örneklerin serbest yağ asitleri miktarı % 1,37 – 1,57 arasında değiştiği belirlenmiştir. Olgunlaşma ilerledikçe tüm örneklerde

düzenli bir artış meydana gelmiş ve birbirine çok yakın değerler almıştır ( $P < 0.05$ ).

Güler (2000) Ankara piyasasından temin ettiği 30 adet tulum peynirinde serbest yağ asitleri değerlerinin 2,03 – 35,53 gibi geniş bir aralıkta değişim gösterdiğini saptamıştır.

Araştırmamızda üretilen deneme peynirlerine ait söz konusu değerler olgunlaşma süresi boyunca artmış olup, çeşitli peynir türlerinde serbest yağ asitleri miktarının arttığına dair sonuçlar Güven (1993), Koca (1996), Dinkçi (1999), Mallatou et al. (2003), Georgala et al. (2005), Karaman (2007) gibi araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Litopoulou-Tzanetaki *et al.* (1993) Feta peynirinde yaptıkları çalışmada *Lb. delbruecki ssp. bulgaricus*, *Lc. lactis* + *Lb. casei* + *Leu. cremoris*, *Lc. lactis* + *Lb. casei* + *E.durans*, *Lc. lactis* + *E. durans* + *Lb. casei* + *Leu. cremoris* kültür kombinasyonları arasında en fazla lipolitik aktiviteye sahip grubun *Lc. lactis* + *Lb. casei* + *E. durans* + *Leu. cremoris* içeren grup olduğunu bildirmişlerdir. Yine Jensen et al. (1975), deneme peynirlerinde yüksek lipolitik aktivitede *E. faecium* kullanımının lipolizi etkilemediğini saptamışlardır.

Peynirlerde olgunlaşma periyodunda meydana gelen lipoliz düzeyleri ve asit değeri arasındaki farklılık; kullanılan süt çeşidi, doğal lipaz, bakteriyel lipazlar, peynir sütünün homojenizasyonu ve pastörizasyonu, salamura konsantrasyonu ve olgunlaşma sıcaklığı gibi bir çok faktörle açıklanabilmektedir (Kavas, 2011).

#### **4.14 İzmir Tulum Peyniri Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri**

##### **4.14.1 Kültür bakterileri**

###### **4.14.1.1 Lactobacillus türleri**

*Lactobacillus* türleri peynir florasında bulunan ve peynir olgunlaştırılmasında rol alan en önemli mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır. Gerek sütte doğal olarak bulunan, gerekse peynir sütüne

sonradan inoküle edilen kültürde bulunan bu bakteriler peynir çeşidine göre yararlanılan kültür kombinasyonlarda yer alabilirler. Ayrıca peynir tipine göre termofil veya mezofil türler kullanılmaktadır (Gönç vd., 1997).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactobacillus* ssp. içerikleri ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.26 ve Şekil 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.26 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactobacillus* ssp. sayıları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob 100g<sup>-1</sup>)

<i>Lactobacillus</i> ssp. (Log kob g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	6,21 ± 0,04aB	11,31 ± 0,13cE	7,43 ± 0,16bA	11,16 ± 0,07cE
30	6,01 ± 0,15aA	10,66 ± 0,64cD	9,11 ± 0,06bD	10,66 ± 0,10cD
60	7,51 ± 0,01aE	9,15 ± 0,21cC	8,29 ± 0,12bC	8,45 ± 0,21bBC
90	6,13 ± 0,03aAB	9,00 ± 0,14dC	8,16 ± 0,06cC	7,88 ± 0,04bA
120	6,28 ± 0,06aB	7,91 ± 0,02bB	8,94 ± 0,05cD	8,61 ± 0,01dC
150	7,16 ± 0,06aD	7,55 ± 0,02bAB	7,56 ± 0,06bA	8,29 ± 0,04cB
180	6,97 ± 0,01aC	7,14 ± 0,03bA	7,85 ± 0,02cB	7,82 ± 0,06cA
<b>Ortalama</b>	6,61 ± 0,57	8,96 ± 1,52	8,19 ± 0,62	8,98 ± 1,31

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

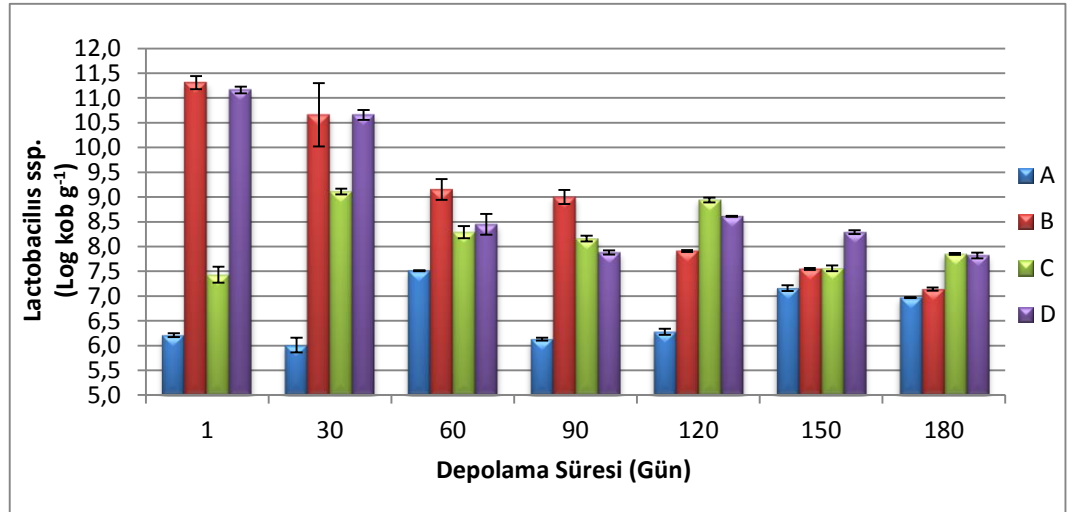
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının *Lactobacillus* ssp. sayısına etkisi ve depolama süresince *Lactobacillus* ssp. sayılarında meydana gelen değişiklikler önemli bulunmuştur (P<0.05).



**Şekil 4.13** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactobacillus* ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

Çizelge incelendiğinde B örneğinde depolama süresince azalma, A, C ve D örneklerinde ise depolama süresince artış ve azalmalar dikkat çekmektedir. Depolama başlangıcında *Lactobacillus* ssp. oranı 6,21 ile 11,31 arasında seyretmiş, en yüksek B örneğinde (11,31) belirlenirken, bunu D (11,16), C (7,43) ve A (6,21) örnekleri izlemiştir. Depolama sonunda ise en yüksek C örneğinde (7,85) belirlenirken bunu D (7,82), B (7,14) ve A (6,97) örnekleri izlemiştir. Depolama başlangıcı ve sonrası değerler karşılaştırıldığında ise A ve C örneğinde yükselme, B ve D örneklerinde azalma saptanmıştır. Bu durum başlangıçta teneke kutularda ambalajlanan peynirlerin daha sonra kalıpların vakum altında ambalaja alınması ve bu ambalajlarda meydana gelen farklılıktan kaynaklanmış ve *Lactobacillus* ssp. sayılarındaki değişim artış yada azalışlar şeklinde meydana gelmiştir. *Lactobacillus* ssp. gibi anaerobik laktik asit bakterileri ambalaj materyali ve oksijen durumu gibi koşullardan kolayca etkilenebilmektedir. Peynir örneklerinin hiç birinde *Lactobacillus* sayısı 6 Log seviyesinin altına düşmemiştir. Bunun yanında peynirlerin ön olgunlaştırılması süresinde pastörizasyondan sonra sütte kalan *Lactobacillus* türlerinin gelişmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Gönç vd. (1997) kültür kullanarak yaptıkları İzmir Tulum Peyniri örneklerinde üretimin 1. gününde  $1,27 \times 10^5$  kob /g *Lactobacillus* ssp. sayısını 2.

ay sonunda  $9,18 \times 10^6$  kob/g, 4. ay sonunda  $1,44 \times 10^6$  kob/g, 6. ay sonunda ise  $9.1 \times 10^5$  kob/g olarak saptamıştır.

Gökovalı (1980) özellikleri farklı 4 mandırada kültür kullanılmadan üretilen peynirlerde Laktobasil türü bakteri sayısının mandıraya, yapıldığı mevsime ve 6 aylık olgunlaşma süresine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Gürses ve Erdoğan (2006) üç ay olgunlaştırdıkları tulum peynirlerinden izole ettikleri bakterilerin büyük bölümünün laktobasillerden oluştuğunu belirlemiş ve laktobasil türlerinin sayılarında depolama süresi ilerledikçe artış meydana geldiğini saptamışlardır.

#### **4.14.1.2 Lactococcus türleri**

Bu grup bakteriler sütün peynire işlenmesinden itibaren olgunlaşma periyodu boyunca varlığını sürdüren önemli bir gruptur. Bunlar arasında mezofil karakterli laktik streptokoklar yüksek tuz konsantrasyonu ve yüksek sıcaklık derecelerine dayanıksızdırlar. Bu bakımdan peynire ayrılan süte uygulanacak ısı işlemler peynir olgunlaşmasını sağlayacak olan bu tür bakterilerin, peynir cinsi ve tipine uygun bir kombinasyon içinde inoküle edilmesini gerektirmektedir (Gönç vd., 1997).

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactococcus* ssp. içerikleri ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.27. ve Şekil 4.14.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, İzmir Tulum Peyniri üretiminde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren starter kültür kullanımının *Lactococcus* ssp. sayılarına etkisi 150. günde önemsiz ( $P > 0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Depolama süresince *Lactococcus* ssp. sayılarında meydana gelen değişiklikler ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 4.27 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactococcus* ssp. sayıları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

<i>Lactococcus</i> ssp. (Log kob g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	12,98 ± 0,14cF	11,88 ± 0,04bD	11,53 ± 0,09aE	11,91 ± 0,03bC
30	12,65 ± 0,07cE	11,91 ± 0,07bD	10,54 ± 0,09aD	12,48 ± 0,07cD
60	9,70 ± 0,14aC	9,96 ± 0,13aB	9,88 ± 0,04aC	11,84 ± 0,09bC
90	8,65 ± 0,07aB	8,40 ± 0,13aA	9,21 ± 0,08bB	11,12 ± 0,26cB
120	10,25 ± 0,03aD	10,48 ± 0,02bC	10,52 ± 0,03bD	10,89 ± 0,21cB
150	8,76 ± 0,05B	8,58 ± 0,39A	8,82 ± 0,05A	8,84 ± 0,09A
180	8,27 ± 0,01aA	8,72 ± 0,06bA	8,92 ± 0,07cA	8,83 ± 0,08bcA
<b>Ortalama</b>	10,18 ± 1,85	9,99 ± 1,45	9,91 ± 0,97	10,84 ± 1,42

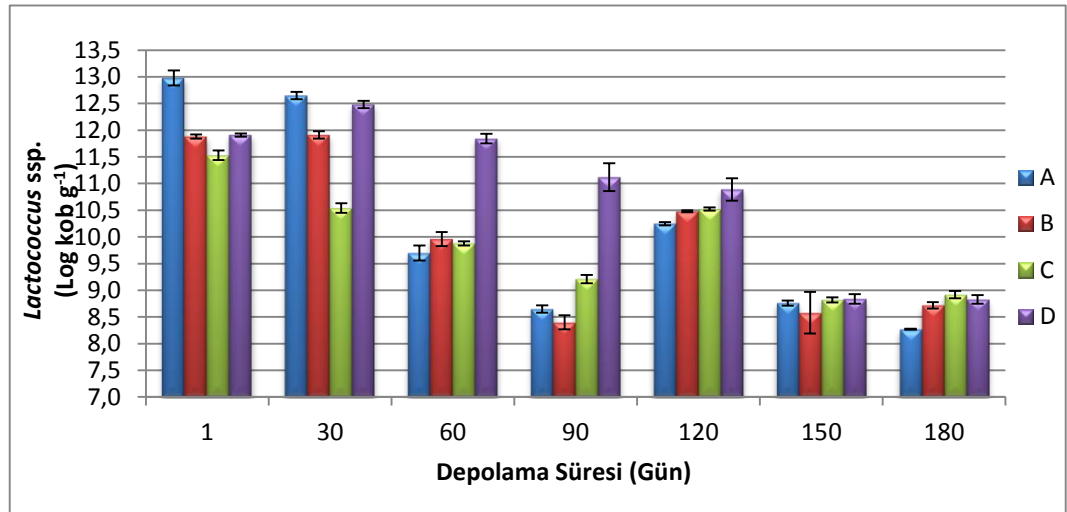
a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E,F : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.14 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Lactococcus* ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

Depolamanın 1. günündeki laktokok sayıları 12,98 ile 11,53 arasında değişirken, en yüksek oran A örneğinde (12,98) belirlenmiş, bunu D (11,91), B (11,83) ve C (11,53) örneği izlemiştir. 180. gün sonunda ise değerler 8,27 ile 8,92 arasında değişirken en yüksek oran C örneğinde (8,92) belirlenmiş bunu D (8,83), B (8,72) ve C (8,27) örneği izlemiştir. Peynir örneklerinde *Lactococcus* sayısı 8 Log seviyesinin altına düşmemiştir. *Lactococcus* sayısının *Lactobacillus* sayısına göre daha yüksek olması *Lactococcus* içeren peynir kültürünün kullanılması ve bu kültürde *Lactobacillus* bulunmamasıyla açıklanabilir.

Tüm peynir örneklerinin laktokok sayılarında 90. güne kadar düzenli bir azalma belirlenmiş, 120. günde artış olmuş ve ilerleyen sürede azalma meydana gelmiştir. Depolama başlangıç ve sonu değerleri karşılaştırıldığında ise 180. gün depolama sonuçları 1. güne göre 3-4 log kob g<sup>-1</sup> seviyesinde daha düşüktür. Peynirlerin içeriğinde meydana gelen yüksek *Lactococcus* sayıları kullanılan starter kültür tipi ve ön olgunlaştırma nedeniyle oluşabilmektedir.

Gönç vd. (1997) kültür kullanarak ürettikleri İzmir Tulum Peyniri örneklerindeki Laktokok sayısını olgunlaşmanın 1. gününde 2.49x10<sup>6</sup> kob /g, 2. ayın sonun 4.91x10<sup>6</sup> kob/g, 6. ayın sonunda ise 1.06x10<sup>6</sup> kob/g olarak belirlemişlerdir. Morgues et al. (1977) ve Munez and Medina (1979) yaptıkları çalışmalarda peynirde olgunlaşma boyunca *L. lactis* ve *L. cremoris*'in dominant durumda olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ateş ve Patr (2001) çeşitli starter kültür kombinasyonlarıyla ürettiği tulum peynirlerinde *Lactococcus* ssp. sayılarının 15. günde en yüksek seviyeye ulaştıktan sonra zamanla azalma gösterdiğini belirlemiştir.

Öner vd. (2005) klasik yöntem ve starter kültür kullanarak ürettiği tulum peynirlerinde laktokok sayılarının 7,71 – 8,15 Log kob/g arasında değiştiğini ve örnekler arasında depolama süresince bazı farklılıklar olduğunu saptamıştır.

#### **4.14.1.3 Enterococcus türleri**

Peynir teknolojisinde ürün son özelliklerine olumlu etkilerinden dolayı kültür kombinasyonları hazırlanırken patojenite özelliği göstermeyen enterokok



türlerine yer verilmektedir. Bunun yanında sınırlı derecede de olsa dekarboksilasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına katılarak peynir olgunlaşmasında rol oynamaktadırlar.

Son yıllarda peynir üretiminde kullanılan starter kültürlerin kombinasyonlarında bulunmasına yer verilen bu bakteriler büyük ölçüde olumlu özellikler göstermektedir. Diğer laktik asit bakterilerine oranla daha dirençli özellikleri nedeniyle canlılıklarını büyük ölçüde koruyabilmektedirler. Bu da olgunlaşma süresince her aşamada aktif olmalarına neden olmaktadır.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Enterococcus* ssp. içerikleri ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.28. ve Şekil 4.15.'de verilmiştir.

Çizelge 4.28 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Enterococcus* ssp. sayıları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

<i>Enterococcus</i> ssp. (Log kob g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	3,81 ± 0,04aAB	8,02 ± 0,05bCD	8,76 ± 0,15cC	11,95 ± 0,03dE
30	4,59 ± 0,16aC	8,58 ± 0,39bE	9,39 ± 0,13cD	12,13 ± 0,07dE
60	4,40 ± 0,03aC	8,26 ± 0,05bDE	8,65 ± 0,07cC	10,15 ± 0,21dD
90	3,97 ± 0,16aB	7,19 ± 0,06bA	7,91 ± 0,08cB	8,78 ± 0,11dC
120	4,50 ± 0,02aC	7,72 ± 0,06bBC	7,90 ± 0,07cB	8,23 ± 0,07dB
150	3,95 ± 0,01aB	7,49 ± 0,01bAB	7,65 ± 0,03cA	8,14 ± 0,85dAB
180	3,70 ± 0,08aA	7,38 ± 0,03bAB	7,78 ± 0,04cAB	7,95 ± 0,06dA
<b>Ortalama</b>	4,14 ± 0,37	7,80 ± 0,50	8,29 ± 0,63	9,62 ± 1,74

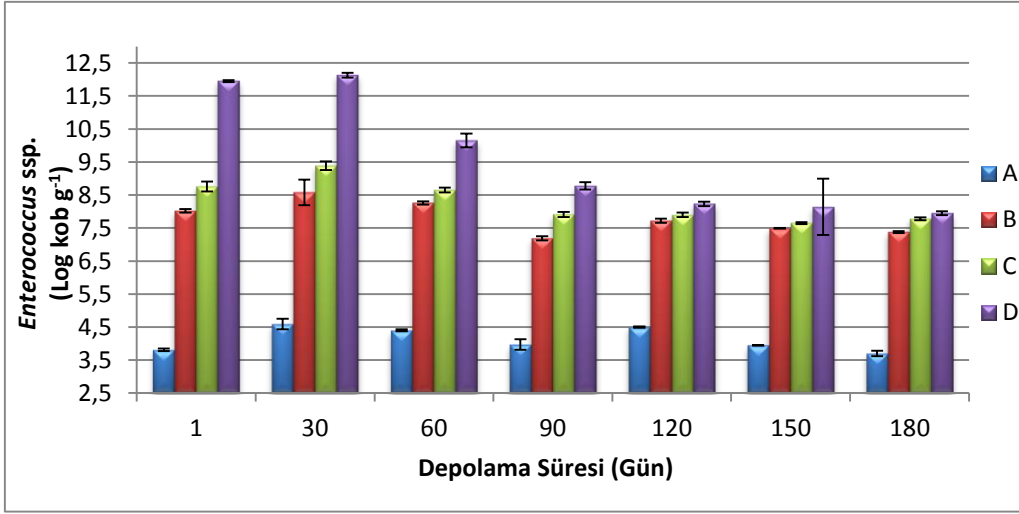
a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D,E : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



**Şekil 4.15** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin *Enterococcus* ssp. sayılarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlara probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının *Enterococcus* ssp. sayılarına etkisi ve depolama süresince *Enterococcus* ssp. sayılarında meydana gelen değişiklikler önemli bulunmuştur (P<0.05).

Depolama başlangıcında en yüksek *Enterococcus* ssp. sayısı D örneğinde (11,95) belirlenirken, bunu C (8,76), B (8,02), A (3,81) örnekleri izlemiştir. Peynir örneklerinde belirlenen en yüksek değerler depolamanın 30. gününde saptanmış, daha sonraki günlerde azalma belirlenmiştir. Depolama sonunda ise *Enterococcus* ssp. canlılıklarının sıralaması değişmemiş ve 3,70 ile 7,95 arasında bulunmuştur. Araştırma sonuçlarımızda da görüldüğü gibi elde edilen değerler destek kültür olarak kullanılan probiyotik *Enterococcus* ssp. oranlarından kaynaklanmakta, yani kültür kompozisyonundaki enterokok oranı arttıkça ürünlerdeki enterokok sayısı da artmıştır. A örneğinde 3,81 - 4,50 log kob g<sup>-1</sup> enterokok saptanması, düşük sıcaklıklarda ısıtma ve/veya çevresel kontaminasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanında daha önce de değinildiği gibi enterokoklar, pek çok peynir çeşidinde olduğu gibi geleneksel yöntemle üretilen İzmir Tulum Peyniri'nin de doğal florasını oluşturmaktadır.

Gürses ve Erdoğan (2006) 3 ay olgunlaştırdıkları tulum peynirlerinde laktobasillerin dominant flora olduğunu ve enterokok, laktokok ve

lökönostokların düşük oranda bulunduğunu belirtirken, Çakmakçı et al. (2008) 9 ay olgunlaşmış tulum peynirlerinde laktobasil ve enterokokların yüksek oranda bulunabileceğini saptamıştır.

Öner vd. (2005) geleneksel yolla ürettiği tulum peynirlerinde olgunlaşmanın 30. ve 60. günlerinde enterokok sayılarının daha düşük olduğunu ve 90. günde artış meydana geldiğini belirlemiştir. Enterokok içeren starter kültür kullanarak üretilen tulum peynirlerinde enterokok sayılarının yakın değerler aldığı ve değişimlerin önemsiz olduğunu belirlemiştir.

#### **4.14.1.4 Maya-küf miktarı**

Tekinşen (1978) ve Gökovalı (1980) peynirlerde ilk aylardaki maya sayılarının ileri devrelerde hızla azaldığını bildirmişlerdir. Ergüllü (1980)'nün belirttiği gibi bu sayının azalmasında en büyük etkenin peynirlerde oluşan asitlik ve tuzdan ziyade ortamın oksidoredüksiyon potansiyeline bağlı olduğu söylenebilir. Çünkü mayalar değişik tuz konsantrasyonunda ve farklı asitlik derecelerinde de bulunabilmektedirler.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin maya-küf miktarları ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.29. ve Şekil 4.16.'de verilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlara probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının etkisi ve depolama süresince maya-küf sayılarında meydana gelen değişiklikler önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Çizelge incelendiğinde peynir örneklerinin maya-küf miktarlarında depolama süresince artış ve azalmalar meydana gelmiş, düzgün bir artış yada azalma saptanmamıştır. Maya-küf miktarları depolama başlangıcında  $< 10$  ile 5.46 arasında değişirken, depolamanın son gününde 4,22 – 4,77 Log kob  $g^{-1}$  arasında değişmiştir. Depolama sonu değerleri dikkate alındığında en düşük maya-küf miktarı D örneğinde (4,22) belirlenirken, bunu A (4,45), C (4,47) ve B (4,77) örnekleri izlemiştir.

Çizelge 4.29 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin maya-küf sayıları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

Maya-Küf (Log kob g <sup>-1</sup> )	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	5,46 ± 0,21dE	3,25 ± 0,07bA	3,95 ± 0,08cA	<10aA
30	3,65 ± 0,08aB	4,54 ± 0,09bBC	5,11 ± 0,01cCD	3,54 ± 0,08aB
60	4,75 ± 0,14bCD	4,70 ± 0,07bC	5,33 ± 0,04cDE	4,25 ± 0,14aC
90	4,90 ± 0,07aD	5,47 ± 0,03cD	5,54 ± 0,06cE	5,28 ± 0,06bD
120	3,92 ± 0,04aB	5,35 ± 0,07cD	4,90 ± 0,21bC	5,15 ± 0,07bcD
150	3,24 ± 0,34aA	4,33 ± 0,21bB	4,25 ± 0,71bB	4,25 ± 0,13bC
180	4,45 ± 0,06bC	4,77 ± 0,03cC	4,47 ± 0,03bB	4,22 ± 0,06aC
<b>Ortalama</b>	4,34 ± 0,76	4,63 ± 0,71	4,79 ± 0,67	3,81 ± 1,71

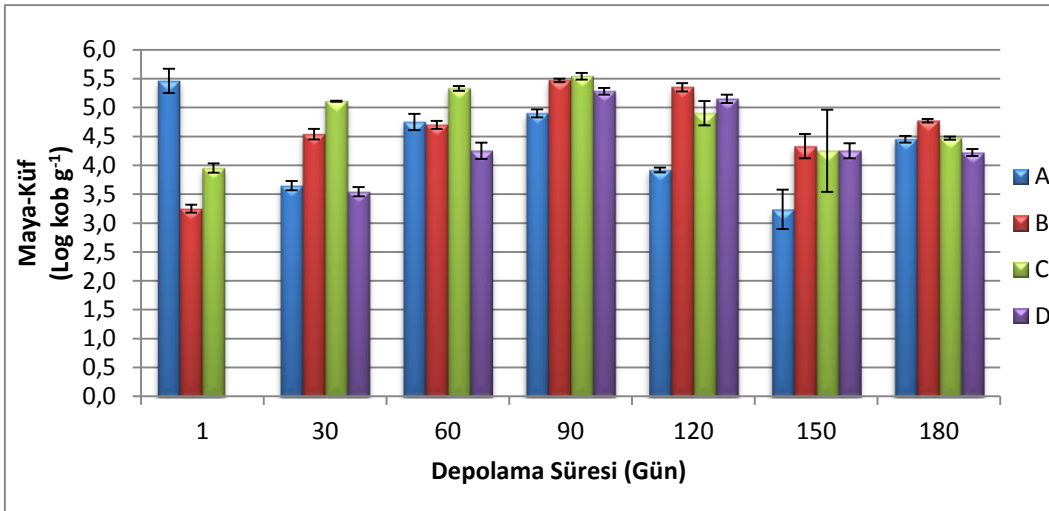
a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D ,E : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.16 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin maya-küf sayıları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (Log kob g<sup>-1</sup>)

Öner vd. (2005) klasik yöntem ve starter kültür kullanarak ürettiği tulum peynirlerinde maya-küf sayılarının başlangıç değerlerine göre küçük dalgalanmalar görülmekle birlikte, depolama boyunca önemli bir değişim göstermediğini ve sayımların 4,22 ile 5,49 Log kob/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Güven ve Konar (1994) tarafından elde edilen değerlere de yakınlık göstermektedir. Aynı zamanda, Tekinşen (1978), Gökova (1980) ve Gönç (1997)'in bulgularının aksine araştırmamızda maya-küf miktarının azalmadığı saptanmıştır.

#### 4.15 Peynir Randımanı

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin randımanları Çizelge 4.30.'da verilmiştir.

Çizelge 4.30 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin randımanları (1 kg peynir/L süt)

	Peynir Örnekleri			
Randman	A	B	C	D
	10,50	9,85	9,55	9,43

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

Çizelge 4.30. incelendiğinde İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde probiyotik enterokok kullanımının randımana etki ettiği görülmektedir. Kültürdeki enterokok oranı arttıkça randımanda artış meydana gelmiştir. Özellikle % 20 enterokok içeren kültürle üretilen D peynirinin randımanı, enterokok içermeyen kültürle üretilen A peynirinin randımanına göre yaklaşık %1'lik artışa neden olmuştur. Ancak bu durum kültürdeki enterokok oranında değil, peynirlerdeki bu durum farklı fizikokimyasal olaylar nedeniyle de meydana gelebilmektedir.

#### 4.16 Duyusal Değerlendirme

Çalışmada farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürlerle üretilen İzmir Tulum Peyniri örnekleri, eğitilmiş 7 panelist tarafından yüzey görünümü, renk, doku, lezzet ve tüm izlenim açısından 5 puan üzerinden incelenmiş aşağıdaki genel sonuçlar elde edilmiştir.

##### 4.16.1 Yüzey görünümü

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin kitle görünümü, gözenek dağılımı, gözenek büyüklüğü ve yarık oluşumu gibi özelliklerin değerlendirildiği yüzey görünümü açısından duyusal özellik puanları ve 180 günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.31. ve Şekil 4.17.'de verilmiştir.

Çizelge 4.31 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yüzey görünümü puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

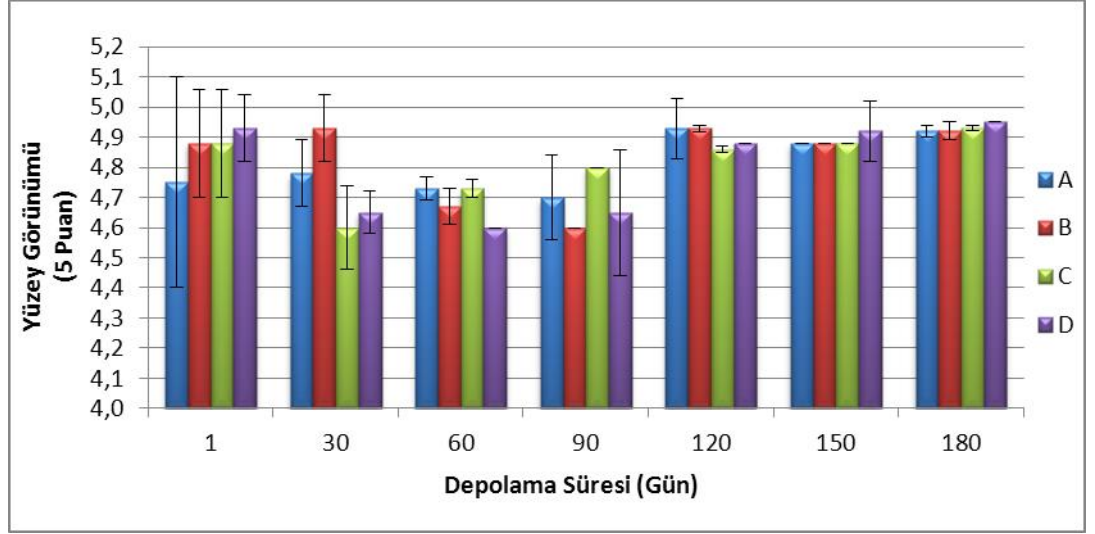
Yüzey Görünümü	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	4,75 ± 0,35	4,88 ± 0,18	4,88 ± 0,18	4,93 ± 0,11
30	4,78 ± 0,11	4,93 ± 0,11	4,60 ± 0,14	4,65 ± 0,07
60	4,73 ± 0,04	4,67 ± 0,06	4,73 ± 0,03	4,60 ± 0,00
90	4,70 ± 0,14	4,60 ± 0,00	4,80 ± 0,00	4,65 ± 0,21
120	4,93 ± 0,10	4,93 ± 0,11	4,86 ± 0,01	4,88 ± 0,00
150	4,88 ± 0,00	4,88 ± 0,00	4,88 ± 0,00	4,92 ± 0,10
180	4,92 ± 0,02	4,92 ± 0,03	4,93 ± 0,01	4,95 ± 0,00
Ortalama	4,81 ± 0,15	4,83 ± 0,15	4,81 ± 0,13	4,71 ± 0,29

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



**Şekil 4.17** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin yüzey görünümü puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Tulum peynirinin yüzey görünüm özellikleri starter kültür bileşiminde yer alan bakteriler sayesinde, özellikle de homofermentatif laktik asit bakterilerinden kaynaklanmaktadır. Meydana gelen bu oluşumlar özellikle olgunlaşmanın 3. ayından itibaren görülmeye başlanmaktadır.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının yüzey görünümü puanlarına etkisi ve depolama süresince yüzey görünümü puanlarında meydana gelen değişiklikler önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

Depolama başlangıcında yüzey görünümü puanları 4,75 ile 4,93 arasında, depolama sonunda ise 4,92 ile 4,93 arasında değişmiştir. Depolama başlangıç ve sonunda en yüksek puanı D kodlu örnek almış, ve diğer örneklerin de yüzey görünümü puanlarının arttığı belirlenmiştir. Bunun yanında depolama süresince tüm örnekler 4,60 ve üzerinde puan almıştır.

Panelistler yaptıkları değerlendirmelerde, İzmir Tulum Peyniri'ne özgü yapının tam olarak meydana gelmediği, peynir kitlesinin daha çok beyaz peynir görünümünde olduğu yorumları yapılmıştır. Bu durum üretimde kullanılan çiğ sütün pastörizasyon sıcaklığına ısıtılması ve üretimde kullanılan starter kültürün

antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle starter olmayan mikrofloranın bastırılabilceği yorumu yapılmıştır.

#### 4.16.2 Renk

İzmir Tulum Peyniri'nde rengin parlak açık sarı veya homojen renkte olması istenmekte, açık sarı renk de kabul edilebilir olarak değerlendirilmektedir. Ancak, koyu sarı veya karamelize renk ile değişik renk oluşumları istenmeyen özellikler arasındadır.

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin renk açısından duyuşal özellik puanları ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.32. ve Şekil 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.32 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin renk puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Renk	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	4,50 ± 0,00	4,78 ± 0,04	4,83 ± 0,11	4,83 ± 0,11
30	4,83 ± 0,04	4,73 ± 0,18	4,70 ± 0,00	4,83 ± 0,04
60	4,81 ± 0,08	4,75 ± 0,00	4,83 ± 0,11	4,74 ± 0,06
90	4,70 ± 0,14	4,85 ± 0,21	4,75 ± 0,00	4,75 ± 0,07
120	4,86 ± 0,21	4,75 ± 0,14	4,65 ± 0,07	4,75 ± 0,07
150	4,75 ± 0,00	4,75 ± 0,00	4,75 ± 0,00	4,75 ± 0,00
180	4,83 ± 0,04	4,80 ± 0,00	4,83 ± 0,04	4,83 ± 0,04
Ortalama	4,75 ± 0,14	4,77 ± 0,10	4,78 ± 0,14	4,78 ± 0,06

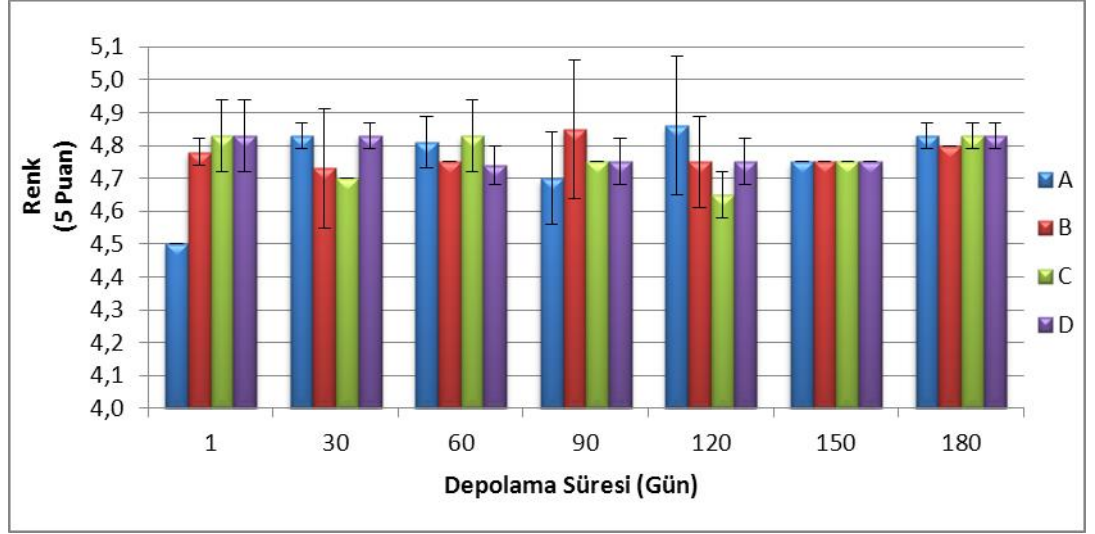
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir





**Şekil 4.18** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin renk puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının renk puanlarına etkisi ve depolama süresince renk puanlarında meydana gelen değişimler önemsiz bulunmuştur. ( $P>0.05$ ).

Deneme peynirlerinin depolama başlangıcındaki renk puanları 4,50 ile 4,83 arasında değişirken, depolama sonunda 4,80 ile 4,83 arasında değişmiştir. Peynir örneklerinde renk puanları depolama süresince artış göstermiş ve en yüksek seviyeye depolama sonunda ulaşmıştır. Bunun yanında depolama süresince verilen puanlar 4,65 ve üzerinde seyretmiştir.

#### 4.16.3 Doku

İzmir Tulum Peyniri'nde doku özelliklerinin normal sertlikte ve ufalanmayan, ağızda sığışmayan ve kolayca dağılan özellikte olması istenmektedir. Belirgin derecede yumuşak veya dağılan, ağızda sığışan nitelikteki peynirler ise kabul edilemez özellikler arasındadır.

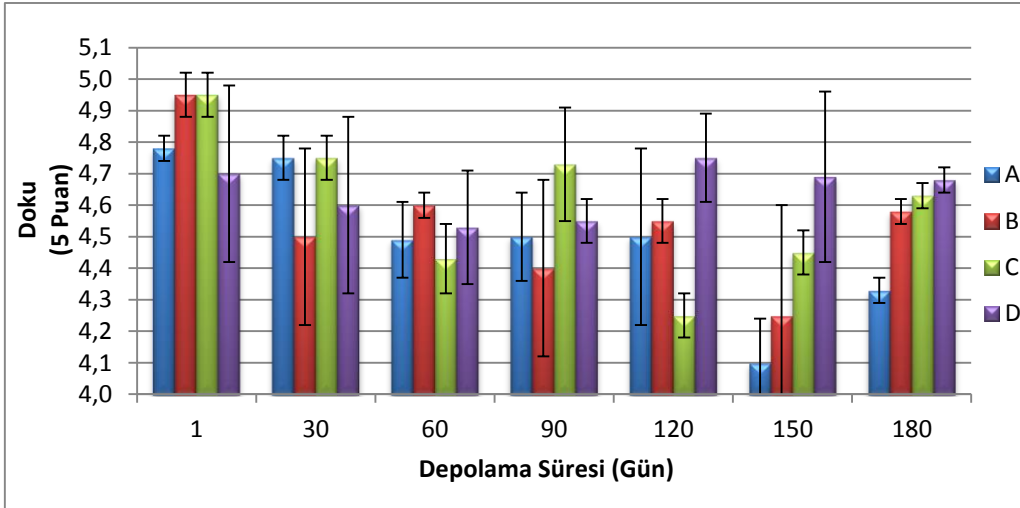
İzmir Tulum Peyniri örneklerinin sertlik, dağılma, yapışkanlık ve elastikiyet gibi doku özellikleri açısından elde edilen duyuşal özellik puanları ve

180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.33. ve Şekil 4.19.'da verilmiştir.

Çizelge 4.33 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin doku puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Doku	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	4,78 ± 0,04	4,95 ± 0,07D	4,95 ± 0,07	4,70 ± 0,28C
30	4,75 ± 0,07	4,50 ± 0,28CD	4,75 ± 0,07	4,60 ± 0,28C
60	4,49 ± 0,12	4,60 ± 0,04AB	4,43 ± 0,11	4,53 ± 0,18BC
90	4,50 ± 0,14	4,40 ± 0,28CD	4,73 ± 0,18	4,55 ± 0,07BC
120	4,50 ± 0,28	4,55 ± 0,07A	4,25 ± 0,07	4,75 ± 0,14BC
150	4,10 ± 0,14	4,25 ± 0,35AB	4,45 ± 0,07	4,69 ± 0,27A
180	4,33 ± 0,04a	4,58 ± 0,04bBC	4,63 ± 0,04b	4,68 ± 0,04bAB
Ortalama	4,49 ± 0,25	4,56 ± 0,26	4,60 ± 0,24	4,63 ± 0,17

a,b : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.19 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin doku puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlara probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının doku puanlarına etkisi yalnızca 180. günde önemli ( $P < 0.05$ ), diğer günlerde ise önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Depolama süresince doku puanlarında meydana gelen değişiklikler ise A ve C örneklerinde önemsiz ( $P > 0.05$ ), B ve D örneklerinde önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Peynir örneklerinin doku puanları depolamanın 1. gününde 4,70 ile 4,95 arasında değişmiş ve en yüksek puanı C örneği alırken bunu sırasıyla B, A ve D örnekleri izlemiştir. Depolama sonunda ise puanlar 4,33 ile 4,68 arasında değişmiş ve en yüksek puanı D örneği alırken bunu C, B ve A örnekleri izlemiştir. Ayrıca tüm örneklerin doku puanlamalarında bir azalma belirlenirken en düşük azalma D örneğinde belirlenmiştir.

#### **4.16.4 Lezzet**

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin çok sayıda parçalanma ürününden kaynaklanan tat özelliklerinin değerlendirildiği lezzet açısından duyuşal özellik puanları ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.34. ve Şekil 4.20.'de verilmiştir.

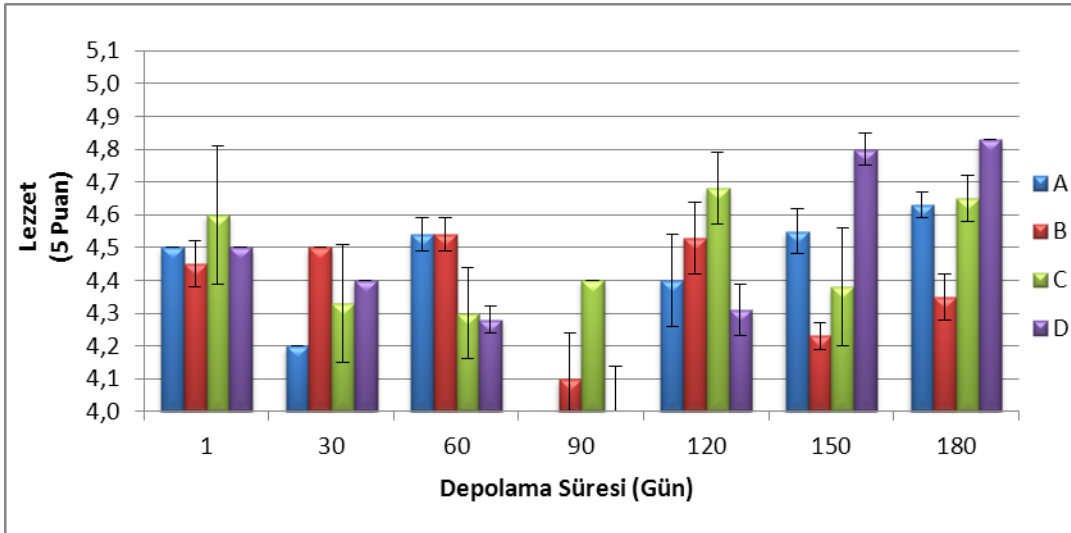
Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının etkisi 90. güne kadar önemsiz ( $P > 0.05$ ), 90. gün ve sonrası önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Depolama süresince meydana gelen değişiklikler ise C örneğinde önemsiz ( $P > 0.05$ ), diğer örneklerde önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Depolamanın 1. günündeki lezzet puanları 4.45 ile 4.60 arasında değişirken en yüksek puanı C örneği almış, bunu D, A ve B örnekleri izlemiştir. Depolamanın sonu yani 180. günde ise puanlar 4,35 – 4,83 arasında değişmiş en yüksek beğeniyi D örneği alırken, bunu C, A ve B örnekleri izlemiştir. Ayrıca A, C ve D örneklerinin lezzet puanlamalarında artma ve B örneğinde azalma belirlenirken, en yüksek lezzet puanlaması artışı D örneğinde olmuştur

Çizelge 4.34 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin lezzet puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Lezzet	Peynir Örnekleri			
Depolama (gün)	A	B	C	D
1	4,50 ± 0,00CD	4,45 ± 0,07C	4,60 ± 0,21	4,50 ± 0,00C
30	4,20 ± 0,00B	4,50 ± 0,00C	4,33 ± 0,18	4,40 ± 0,00BC
60	4,54 ± 0,05CD	4,54 ± 0,05C	4,30 ± 0,14	4,28 ± 0,04B
90	4,00 ± 0,00bA	4,10 ± 0,14bA	4,40 ± 0,00b	4,00 ± 0,14aA
120	4,40 ± 0,14Cbc	4,53 ± 0,11aC	4,68 ± 0,11ab	4,31 ± 0,08Bc
150	4,55 ± 0,07bCD	4,23 ± 0,04aAB	4,38 ± 0,18a	4,80 ± 0,05cD
180	4,63 ± 0,04bD	4,35 ± 0,07aBC	4,65 ± 0,07b	4,83 ± 0,00cD
<b>Ortalama</b>	4,40 ± 0,22	4,38 ± 0,17	4,48 ± 0,19	4,44 ± 0,29

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A,B,C,D : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler  $p < 0.05$  düzeyinde birbirinden farklıdır  
A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir  
B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir  
D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



Şekil 4.20 İzmir Tulum Peyniri örneklerinin lezzet puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

İzmir Tulum Peyniri örneklerinin depolama süresi ilerledikçe daha çok aroma intensitesi ve lezzet yoğunluğu olduğu gözlemlenmiştir. Örnekler

depolamanın ilk günlerinde daha az beğenilmiş, depolama süresi ilerledikçe beğeni artmıştır. Bunun yanında 6 aylık depolama sonunda % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen D grubu peynirde daha belirgin tat aroma oluştuğu saptanmıştır. Bu durum, D grubu peynirin üretiminde kullanılan kültürdeki enterokok yoğunluğunun diğer peynirlere göre daha yüksek olması nedeniyle aroma maddelerinin daha fazla oluşumu bunun sonucunda da lezzetin daha fazla gelişmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Aynı zamanda seçilen probiyotik *Enterococcus* ssp. türlerinin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri de peynirlerin lezzet seviyelerinin artmasına neden olabilmektedir.

#### 4.16.5 Tüm izlenim

Araştırmamızda üretilen İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tüm izlenim açısından duyuşal özellik puanları ve 180. günlük depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.35. ve Şekil 4.21.'de verilmiştir.

Çizelge 4.35 İzmir Tulum peyniri örneklerinin tüm izlenim puanlamaları ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Tüm İzlenim	Peynir Örnekleri			
	A	B	C	D
Depolama (gün)				
1	4,45 ± 0,07AB	4,68 ± 0,11	4,63 ± 0,18	4,55 ± 0,07B
30	4,35 ± 0,21AB	4,18 ± 0,25	4,30 ± 0,14	4,45 ± 0,00B
60	4,60 ± 0,04BC	4,61 ± 0,15	4,60 ± 0,14	4,28 ± 0,04A
90	4,20 ± 0,00A	4,30 ± 0,28	4,28 ± 0,04	4,15 ± 0,07A
120	4,41 ± 0,28AB	4,60 ± 0,14	4,63 ± 0,11	4,55 ± 0,07B
150	4,70 ± 0,07BC	4,48 ± 0,39	4,50 ± 0,35	4,90 ± 0,14C
180	4,83 ± 0,04C	4,83 ± 0,04	4,78 ± 0,04	4,85 ± 0,00C
Ortalama	4,50 ± 0,23	4,52 ± 0,27	4,53 ± 0,22	4,53 ± 0,27

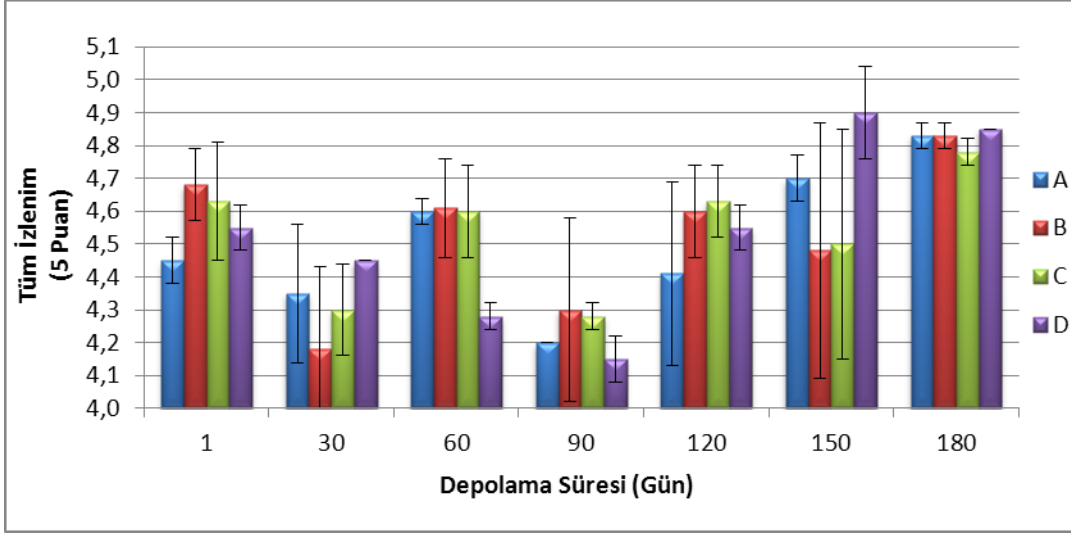
A,B,C : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır

A: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* içeren kültürle üretilen peynir

B: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 5 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

C: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 10 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir

D: *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + % 20 probiyotik *Enterococcus* ssp. içeren kültürle üretilen peynir



**Şekil 4.21** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin tüm izlenim puanlamalarında depolama süresince meydana gelen değişiklikler (5 Puan)

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının tüm izlenim puanlarına etkisi önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunuren, depolama süresince meydana gelen değişimler ise B ve C örneklerinde önemli ( $P<0.05$ ), A ve D örneklerinde ise önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur.

Depolamanın 1. günündeki tüm izlenim puanları 4,45 ile 4,68 arasında değişmiş ve en yüksek beğeniye B örneği almış, bunu C, D ve A örnekleri izlemiştir. Depolamanın son günü olan 180. günde ise bu değerler 4,78 ile 4,85 arasında değişim göstermiş ve en yüksek beğeni puanlarını D örneği toplamış, bunu B, A ve C örnekleri izlemiştir. Bunun yanında tüm örneklerin tüm izlenim puanlarında depolama süresince artış olmuş, en yüksek puan artışı D örneğinde belirlenmiştir. Bunun nedeni depolamanın ilerlemesiyle meydana gelen proteoliz ve lipoliz olayları ile aroma maddelerinin oluşumu ve lezzette meydana gelen gelişme olarak açıklanabilir. İzmir Tulum Peyniri üretiminde destek olarak kullanılan probiyotik *Enterococcus* ssp. arasında proteolitik ve lipolitik suşların seçilmesi ve D grubu peynirin üretiminde daha yüksek oranda *Enterococcus* ssp. bulunması bu peynirin daha çok beğeni kazanmasına neden olmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada biyokimyasal ve fenotipik yöntemler ile çiğ süt ve geleneksel bazı süt ürünlerinden probiyotik özellikteki *Enterococcus* türleri izole edilmesi ve bu türlerin İzmir Tulum Peyniri Üretiminde destek kültür olarak kullanım olanakları araştırılmıştır.

Biyokimyasal ve fenotipik yöntemler ile çiğ süt ve geleneksel bazı süt ürünlerinden probiyotik özellikteki *Enterococcus* türleri izole edilmiş ve teknolojik özellikleri uygun suşlar arasından peynir üretimi için teknolojik özellik gösterenler belirlenmiştir. Uygun bulunan suşlar eşit oranlarda karıştırılarak destek kültür oluşturulmuş ve aktiveştirilen *L. lactis* ssp. *lactis* ve *L. lactis* ssp. *cremoris* içeren ticari kültüre farklı oranlarda (% 5, 10, 20) karıştırılmıştır. Karşılaştırma olarak kullanılacak kontrol peyniri üretiminde ise destek kültür kullanılmamıştır. Böylelikle 4 farklı İzmir Tulum Peyniri üretilmiştir. Araştırma sonucunda aşağıda verilen bulgular elde edilmiş ve öneriler sunulmuştur.

- Çalışmada 167 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş, yapılan fenotipik ve biyokimyasal tanılama sonucunda 122 izolatın *E. faecium* (% 73,05), 18 izolatın *E. durans* (% 10,78), 17 izolatın *E. faecalis* (% 10,18), 8 izolatın *E. faecalis* var. ( % 4,79), 2 izolatın ise *E. hirae* (% 1,19) olduğu belirlenmiştir.
- Tanılama sonuçları incelendiğinde pek çok araştırma ve literatürde *Enterococcus* türlerinin % 6,5 tuz konsantrasyonunda geliştiği belirtilse de çalışmada elde edilen sonuçlarda bazı suşların en fazla % 4 tuz konsantrasyonunda gelişebildiği görülmüştür. Bunun yanında *E. faecium* suşlarının inulin'i kullanmadığı belirtilse de 2 suş zayıf pozitif reaksiyon vermiştir.
- *Enterococcus* türlerinin farklı asidifikasyon sonuçları gösterdiği görülmüş ve bazı türler yüksek asitlik meydana getirirken, bazı türler düşük asitlik göstermiştir. İzole edilen türler incelendiğinde 24 saatlik inkübasyon sonucunda *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının *E. durans* ve *E. hirae*'e göre daha yüksek asitlik meydana getirdiği, ancak bazı *E. faecium*

suşlarının düşük asitlik oluşturduğu ve *E. hirae* suşlarının bazı *E. faecium* suşlarından daha yüksek laktik asit meydana getirebildiği belirlenmiştir.

- 19 suşun ekzopolisakkarit (EPS) üretme yeteneğinde olduğu, 9 tanesinin ise zayıf EPS üretimi gösterdiği görülmüştür. EPS üreten tür ve suşların dağılımı ise 15 adet *E. faecium*, 2 adet *E. durans* ve 2 adet *E. faecalis* var. şeklinde olmuştur. Hiçbir *E. faecalis* suşu ise EPS üretimi gerçekleştirmemiştir. Zayıf EPS üretim yeteneğinde olan tür ve suşlar ise 6 adet *E. faecium*, 1 adet *E. durans* ve 2 adet *E. faecalis* şeklinde olmuştur.
- 17 adet *E. faecium*, 2 adet *E. faecalis*, , 1 adet *E. durans* ve 1 adet *E. hirae* suşunun lipolitik aktivite gösterdiği görülmüştür.
- 172 izolattan 12 tanesinin (9 suş *E. faecium*, 1 suş *E. faecalis* var., 1 suş *E. durans* ve 1 suş *E. faecalis*) 6 mg/L düzeyinde vankomisine tam direnç, 3 tanesi (2 suş *E. faecium* ve 1 suş *E. faecalis* var.) zayıf direnç göstermiştir. 13mg/L düzeyinde vankomisin'e direnç sonuçlarına bakıldığında ise 5 izolatanın (3 suş *E. faecium*, 1 suş *E. durans* ve 1 suş *E. faecalis* var.) tam direnç, 1 suşun (*E. faecium*) zayıf direnç gösterdiği görülmüştür.
- En yüksek antimikrobiyal aktivite değeri *E. faecium* 78E1 suşunda belirlenmiş, bu suş sadece *S. aureus*'a karşı aktivite göstermemiştir. Antimikrobiyal aktivitesi yüksek diğer *E. faecium* suşlarının ise K17E1, K17E3, K16E3, K60E2, K51E1, K71E5, K77E6, K76E3, K75E6, K77E5 olduğu görülmektedir. *E. faecalis* K8E6, K51E3 ve *E. durans* 61E5 suşları en yüksek aktivite gösteren suşlar olarak belirlenmiş ve suşlar sadece 2 test bakterisine etki göstermemiştir. Bu suşların etki gösteremediği test bakterisinin *S. aureus* olduğu, bunu *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *P. aureginosa* ve *A. hydrophilia*'nın izlediği saptanmıştır. Suşların büyük çoğunluğunun *E. coli*'ye etki gösterdiği, bunu *Pseu. aureginosa* ve *L. monocytogenes*'in izlediği görülmektedir. Suşların az bir kısmı ise *B. cereus*'a etki göstermiştir.
- 91 *E. faecium* suşunun 21 adedinin ornitini, 8 adedinin lisini, 5 adedinin ise her iki amino asidi birlikte karboksile ettiği belirlenmiştir. 12 *E. durans* suşunun 2 adedi lisini, 2 adedi ise hem lisini hem de ornitini, *E. faecalis* var. suşunun 2 tanesi ise yalnızca ornitini dekarboksile etmiştir. *E. faecalis* ve *E. hirae* suşlarının hiç biri dekarboksilasyon pozitif sonuç vermemiştir.



- Proteolitik aktivite testine alınan türlerin geniş aralıkta OPA eşdeğeri aktivite gösterdiği belirlenmiştir.
- 17 adet *E. faecium*, 3 adet *E. durans* ve 1 adet *E. faecalis* suşunun pH 2,0, 2,5 ve 3,0'da canlılığını sürdürdüğü görülmüştür. *E. hirae* suşları ise yalnızca pH 2,5 ve 3,0'da canlılık göstermiş, pH 2,0'de zayıf canlılık göstermiştir. *E. faecalis var.* suşunda ise pH 2,0'da canlılık saptanmıştır. pH 2,5'de zayıf canlılık, pH 3,0'de canlılık belirlenirken, *E. faecium* ve *E. durans* suşları arasında ise pH koşullarına direnç gösterememiş ve canlılığını koruyamamış suşlar tespit edilmiştir.
- Yapılan değerlendirme sonucunda İzmir Tulum Peynirlerinin üretiminde kullanılacak kültürlerin hazırlanmasında destek kültür olarak yüksek antimikrobiyal aktiviteli, vankomisin direnci göstermeyen, düşük pH'larda canlılıklarını koruyabilen, dekarboksilasyon aktivitesi olmayan ve peynir üretimi için uygun teknolojik özellik gösteren probiyotik özellikteki *E. faecium* K65E2, *E. faecium* K66E2, *E. faecium* K73E2 ve *E. durans* K61E5 suşları seçilmiştir.
- Seçilen suşların teknolojik ve probiyotik özellikleri aşağıdaki çizelgelerde kısaca özetlenmiştir;

	İzolat No	Fenotipik Tanımlama	3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
<b>Asidifikasyon (pH)</b>	K61E5	<i>E.durans</i>	6,49	6,38	5,47	4,65
	K65E2	<i>E. faecium</i>	6,30	5,96	5,68	4,63
	K66E2	<i>E. faecium</i>	6,27	5,50	5,05	4,55
	K73E2	<i>E. faecium</i>	6,18	5,57	5,01	4,49
<b>Asidifikasyon (% LA)</b>	K61E5	<i>E.durans</i>	0,124	0,141	0,211	0,689
	K65E2	<i>E. faecium</i>	0,140	0,185	0,225	0,635
	K66E2	<i>E. faecium</i>	0,144	0,257	0,356	0,612
	K73E2	<i>E. faecium</i>	0,135	0,225	0,579	0,658

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	EPS Üretimi	Lipolitik Aktivite	Vankomisin Direnci	Lisin Dekarboksilasyon	Ornitin Dekarboksilasyon
K61E5	<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-
K65E2	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	-
K66E2	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	-
K73E2	<i>E. faecium</i>	-	+	-	-	-

**Antimikrobiyal aktivite (inhibisyon zonları)**

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>C. Jejuni</i>	<i>P. aureginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>A. hydrophilia</i>
K61E5	<i>E. durans</i>	-	7	8	-	7	7	11	9	17
K65E2	<i>E. faecium</i>	7	8	8	8	-	-	7	-	-
K66E2	<i>E. faecium</i>	8	8	7	10	-	-	-	-	-
K73E2	<i>E. faecium</i>	-	7	9	-	7	7	8	-	8

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Opa-Değerleri	Asit Direnci		
			2.0 pH	2.5 pH	3.0 pH
K61E5	<i>E. faecium</i>	0,42	+	+	+
K65E2	<i>E. faecium</i>	0,35	+	+	+
K66E2	<i>E. faecium</i>	0,35	+	+	+
K73E2	<i>E. faecium</i>	0,36	+	+	+

İzmir Tulum Peynirleri'nde;

- Kurumadde oranları 49,00 ile 53,49 arasında değişmiş, depolama süresince en yüksek ortalama kurumadde içeriği A kodlu örnekte belirlenmiştir. Bunun yanında kurumadde oranları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).
- Depolamanın 1. gününde A, B ve C örneklerinin yağ içerikleri birbirine yakın değerler gösterirken (% 22,75 – 23,50), D örneğinde daha yüksek bir yağ içeriği (% 24,00) saptanmış, % kurumaddede yağ içerikleri depolamanın 1. gününde % 42,55 – 50,54 arasında değişirken, depolamanın 180. gününde 44,49 – 45,59 arasında değişmiş, kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. kullanımının yağ içeriğine etkisi 90 ve 120. günlerde istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ), diğer günlerde ise önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ).
- Depolamanın 1. gününde en yüksek tuz içeriğine D örneğinin sahip olduğu (% 4,33), bunu sırasıyla C (% 3,45), B (% 3,40), ve A (% 2,43) örneklerinin izlediği görülmüştür. Depolamanın 180. gününde ise en yüksek tuz içeriği yine D (% 5,86) örneğinde belirlenmiş, bunu A (% 5,71), B (% 5,7) ve C (% 5,64) örnekleri izlemiştir. Bunun yanında, kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının tuz oranı üzerine etkisi yalnızca 30. günde önemsiz ( $P > 0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Peynir örneklerinin % kurumaddede tuz içerikleri, tuz içeriğine benzer bir değişim göstermiştir ve aynı şekilde ilk günlerde hızlı ilerleyen günlerde yavaş bir artış meydana gelmiştir. Depolama başında ve sonunda en yüksek değerler D örneğinde belirlenirken, bunu C, B ve A örnekleri izlemiştir. Salamuralı Tip Peynir Standardı'na en uygun içerikli peynir ise C örneğinde saptanmıştır.
- Depolama başlangıcında pH değerleri yüksekten düşüğe C, B, A ve D olarak sıralanırken, depolama sonunda bu sıralama D, C, B ve A şeklinde oluşmuştur. Tulum peyniri örneklerinde pH değerleri A, B ve D örneklerinde 90. güne kadar, C örneği ise 120. güne kadar düşüş göstermiş, bu sürelerden sonra ise tekrar artış olmuştur. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp.

bulunmasının peynirlerin pH değerlerine etkisi, yalnızca 150. günde önemsiz ( $P>0.05$ ), diğer günlerde önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

- Örneklerin depolama başlangıcındaki % laktik asit miktarları düşükten yükseğe doğru C, D, B, A şeklinde, depolamanın sonunda ise B, A, C ve D şeklinde sıralanmıştır. Kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının % laktik asit miktarları üzerine etkisi 1., 30., 120. ve 180. günlerde önemli bulunurken, diğer günlerde önemsiz bulunmuştur. ( $P>0.05$ ). A ve D örneklerinde 90. güne kadar artış, 120. günde azalma ve 150. günde tekrar artış belirlenirken, B ve C örneklerinde 150. güne kadar artış, 180. günde azalma saptanmıştır. Peynirlerde saptanan laktik asit miktarları herhangi bir sorun meydana getirmemiştir.
- Depolama başlangıcındaki % toplam azot içerikleri 3.24 – 3.86 arasında değişirken, depolama sonunda 3,14 – 3,78 arasında değişmiştir. Ortalama değerler açısından değerlendirme yapıldığında ise en yüksek % toplam azot miktarının C örneğinde (3,42) belirlendiği, bunu A (3,41), D (3,38) ve B (3,30) örneklerinin izlediği görülmektedir. Depolama başlangıcındaki % protein içerikleri ise 20.65 – 24.60 arasında değişirken, depolama sonunda 20,21 – 24,088 arasında değişmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda İzmir Tulum Peyniri üretiminde kullanılan starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının % protein miktarları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ortalama değerler açısından değerlendirme yapıldığında ise en yüksek % protein miktarının % toplam azot oranına paralel olarak C örneğinde (21,78) belirlendiği, bunu A (21,72), D (21,56) ve B (21,01) örneklerinin izlediği görülmektedir. Depolama başlangıç ve sonu değerler karşılaştırıldığında ise A ve B örneklerinde azalma belirlenirken, C ve D örneklerinde artış meydana gelmiştir.
- Olgunlaşma süresinin ilk gününde peynir örneklerinde tespit edilen en yüksek suda çözünen azot oranı % 0,186 ile C örneğinde, en düşük suda çözünen azot oranı da % 0,136 ile B örneğinde tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresinin 180. gününde peynir örneklerinde en yüksek değer % 0,602 ile A örneğinde, en düşük değer de % 0,464 ile D örneğinde

belirlenmiştir. Ortalama suda çözünen azot içerilerine bakıldığında ise en yüksek A örneğinde saptanırken, bunu B, C ve D örnekleri izlemiştir.

- İzmir Tulum Peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerleri özellikle suda çözünen azot miktarlarındaki artışa da bağlı olarak düzenli olarak artış göstermiştir. Olgunlaşma süresinin ilk gününde peynir örneklerinde tespit edilen olgunlaşma indeksi değerleri 3,59 – 4,87 arasında değişirken, depolama sonunda 12,46 – 19,46 arasında değişim göstermiştir. Ortalama olgunlaşma indeksi ise en yüksek A örneğinde (11,49) saptanırken, bunu B (11,13), C (10,63) ve D (9,02) örnekleri izlemiştir.
- Olgunlaşmanın 1. gününde örneklerin serbest yağ asitleri miktarı % 1,37 – 1,57 arasında değiştiği belirlenmiştir. Olgunlaşma ilerledikçe tüm örneklerde düzenli bir artış meydana gelmiş ve birbirine yakın değerler almış, starter kültürde farklı oranlarda probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının serbest yağ asitleri değerlerine etkisi 1., 30. ve 90. günlerde önemli ( $P<0.05$ ), diğer günlerde önemsiz olduğu saptanmıştır. Serbest yağ asitleri miktarı üzerine olgunlaşma süresi de  $P<0.05$  düzeyinde etkili bulunmuştur.
- *Lactobacillus* ssp. açısından B örneğinde depolama süresince azalma, A, C ve D örneklerinde ise depolama süresince artış ve azalmalar dikkat çekmiştir. Depolama başlangıcında *Lactobacillus* ssp. sayısı 6,21 ile 11,31 arasında seyretmiş, en yüksek B örneğinde (11,31) belirlenirken, bunu D (11,16), C (7,43) ve A (6,21) örnekleri izlemiştir. Depolama sonunda ise en yüksek C örneğinde (7,85) belirlenirken bunu D (7,82), B (7,14) ve A (6,97) örnekleri izlemiştir.
- *Lactococcus* ssp. sayılarında depolamanın 1. günündeki sayılar 12,98 ile 11,53 arasında değişirken, en yüksek oran A örneğinde (12,98) belirlenirken, bunu D (11,91), B (11,83) ve C (11,53) örneği izlemiştir. 180. gün sonunda ise değerler 8,27 ile 8,92 arasında değişirken en yüksek oran C örneğinde (8,92) belirlenmiş bunu D (8,83), B (8,72) ve C (8,27) örneği izlemiştir.
- En yüksek *Enterococcus* ssp. sayısı D örneğinde (11,95) belirlenirken, bunu C (8,76), B (8,02), A (3,81) örnekleri izlemiştir. Peynir örneklerinde belirlenen en yüksek değerler depolamanın 30. gününde saptanmış, daha

sonraki günlerde azalma belirlenmiştir. Depolama sonunda ise *Enterococcus* ssp. canlılıklarının sıralaması değişmemiş ve 3,70 ile 7,95 arasında bulunmuştur.

- Maya-küf miktarları depolama başlangıcında <10 ile 5,46 arasında değişirken, depolamanın son gününde 4,22 – 4,77 Log kob g<sup>-1</sup> arasında değişmiştir. Depolama sonu değerleri dikkate alındığında en düşük maya-küf miktarı D örneğinde (4,22) belirlenirken, bunu A (4,45), C (4,47) ve B (4,77) örnekleri izlemiştir.
- Üretiminde kullanılan starter kültürde probiyotik enterokok kullanımının randımana etki ettiği görülmektedir. Kültürdeki enterokok oranı arttıkça randımanda artış meydana gelmiştir. Özellikle % 20 enterokok içeren kültürle üretilen D peynirinin randımanı, enterokok içermeyen kültürle üretilen A peynirinin randımanına göre yaklaşık % 1'lik artışa neden olmuş, ancak bu durum peynirde oluşan farklı fizikokimyasal ve biyokimyasal olaylara bağlanmıştır.
- Kullanılan starter kültürde farklı oranlara probiyotik *Enterococcus* ssp. bulunmasının yüzey görünümü ve renk puanlarına etkisi ile depolama süresince yüzey görünümü puanlarında meydana gelen değişiklikler önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Ancak, panelistler İzmir Tulum Peynir'ine özgü yapının tam olarak meydana gelemediğini belirtmiştir.
- Peynir örneklerinin doku puanları depolamanın 1. gününde 4,70 ile 4,95 arasında değişmiş ve en yüksek puanı C örneği alırken bunu sırasıyla B, A ve D örnekleri izlemiştir. Depolama sonunda ise puanlar 4,33 ile 4,68 arasında değişmiş ve en yüksek puanı D örneği alırken bunu C, B ve A örnekleri izlemiştir.
- Depolamanın 1. günündeki lezzet puanları 4,45 ile 4,60 arasında değişirken en yüksek puanı C örneği almış, bunu D, A ve B örnekleri izlemiştir. Depolamanın sonu yani 180. günde ise puanlar 4,35 – 4,83 arasında değişmiş en yüksek beğeniyi D örneği alırken, bunu C, A ve B örnekleri izlemiştir.
- Depolamanın 1. günündeki tüm izlenim puanları 4,45 ile 4,68 arasında değişmiş ve en yüksek beğeniyi B örneği almış, bunu C, D ve A örnekleri izlemiştir. Depolamanın son günü olan 180. günde ise bu değerler 4,78 ile

4,85 arasında değişim göstermiş ve en yüksek beğeni puanları D örneğinde görölmüş bunu B, A ve C örnekleri izlemiştir.

Sonuç olarak araştırma sonucunda farklı teknolojik ve probiyotik karakterde *Enterococcus* tür ve suşu izole edilerek tanısı yapılmıştır. Çalışılan suşlar arasında probiyotik karakterde 30 adet *E. faecium* ve *E. durans* arasından uygun olan 4 adedi seçilerek İzmir Tulum Peyniri Üretiminde kullanılmıştır. Probiyotik özellikteki *Enterococcus* tür ve suşlarının İzmir Tulum Peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanılması peynirlerin fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik özelliklerine olumsuz etki etmemiş ve duysal özelliklerini geliştirdiği belirlenmiştir. Ayrıca probiyotik özellikte İzmir Tulum Peyniri üretilmiş olmuştur.

Gelecek çalışmalarda, geleneksel süt ürünlerinden izole edilen enterokok türlerinin farklı aroma maddeleri oluşturma, EPS oluşturma miktarları gibi teknolojik özellikleri ile ve safra tuzuna direnç ve bağırsak bariyerlerine yapışma gibi probiyotik özelliklerinin incelenmesi de faydalı olacaktır. Böylelikle kültür kataloglarında çok farklı özellikteki enterokok tür ve suşları bulundurulmuş olacak bu bakterilerin farklı tipteki süt ürünlerinde kullanımları kolaylıkla denenebilecektir.

Bunun yanında, İzmir Tulum Peyniri üretiminde *L. lactis* ssp. *lactis* ve *L. lactis* ssp. *cremoris* yanında farklı tip peynir kültürlerinde farklı oranlarda probiyotik tür ve suştaki *Enterococcus* türlerinin kombine edilmesi ve yeni proses geliştirme çalışmaları yapılmalıdır. Yüksek lipolitik karakterde ve EPS üreten suşların da peynir üretiminde kullanılarak sonuçların incelenmesi faydalı olacaktır.





**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Abeijon, M.C., Medina, R.B., Katz, M.B. and Gonzalez, S. N.,** 2006, Technological properties of *Enterococcus faecium* isolated from ewe's milk and cheese with importance for flavour development, Canadian Journal of Microbiology, 52, 237–245.
- Achemchem, F., Abrini, J., Martínez-Bueno, M., Valdivia, E. and Maqueda, M.,** 2006, Control of *Listeria monocytogenes* in goat's milk and goat's Jben by the bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* F58 strain Journal of Food Protection, 69 2370–2376.
- Akbulut, N., Gönç, S., Kınık, Ö., Uysal, H., Akalın, S. ve Kavas, G.,** 1996, Bazı tuzlama yöntemlerinin beyaz peynir üretiminde uygulanabilirliği ve peynir kalitesine etkileri üzerine bir araştırma (I): Duyusal ve mikrobiyolojik özelliklere etkileri, E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(1), 9-16.
- Akpınar, A., Yerlikaya, O. and Kılıç, S.,** 2011, Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts, African Journal of Microbiology Research, 5(6), 675-682.
- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., Swings, J. and Dellaglio, F.,** 2001, Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses, Journal of Dairy Research, 68, 303–316.
- Annamalai, N., Manivasagan, P., Balasubramanian, T. and Vijayalakshmi S.,** 2009, Enterocin from *Enterococcus faecium* isolated from mangrove environment, African Journal of Biotechnology, 8, 6311–6316.
- Anonim,** 1996, Salamura Tulum Peyniri (İzmir Tulum Peyniri), Türk Standardı TS ICS 67.100.30 TS 11966, Mart 1996.
- Anonim,** 2005, Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, ed: Halkman A.K., Basak Matbaacılık Ltd. Sti., Ankara.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Anonim**, 2006a. TS 591 Beyaz Peynir Standardı, TSE, Ankara.
- Anonim**, 2006b. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Tebliğ No: 2006:38.1.Değişiklik (22.8.2006) Ek-D.
- Anonim**, 2011, [http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/kaynaklar/2012\\_06\\_28\\_916786.pdf](http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/kaynaklar/2012_06_28_916786.pdf) (Erişim: 21.09.2012)
- Anonim**, 2012, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=10916> (Erişim: 10.12.2012)
- Anonymous**, 1980, Milk and Milk Products Guide to Sampling Techniques: IDF Standart, 50 A, Brussels, Belgium.
- Anonymous**, 1991, Chemical methods for evaluating proteolysis in cheese maturation. IDF Standart, Bulletin No:261, Brussels, Belgium.
- Anonymous**, 1993, Milk determination of nitrogen content, protein-nitrogen content, and non-protein-nitrogen content, Kjeldahl method, FIL-IDF Standard 20B.
- Arıcı, M. ve Şimşek, O.**, 1991, Kültür kullanımının tulum peynirinin duysal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi, GIDA, 16(1), 53-62.
- Arihara, K., Ogihara, S., Sakata, J., Itoh, M. and Kondo, Y.**, 1991, Antimicrobial activity of *Enterococcus faecalis* against *Listeria monocytogenes*, Letters Applied Microbiology, 13, 190–192.
- Arizcun, C., Barcina, Y. and Torre, P.**, 1997. Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* ssp. isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese, International Journal of Food Microbiology, 38, 17-24.
- Arslan F. ve Kılıç S.**, 2003, Yoğurt Bakterilerine Ait Bakteriyosinlerin Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyel Etki Spektrumunun İncelenmesi. 1. Ulusal Gıda ve Beslenme Kongresi, İstanbul.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Arslaner, A.**, 2008, Geleneksel yöntem ve farklı sütlerden ısıtılarak üretilen ve farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan Erzincan tulum peynirinde bazı kalite niteliklerinin tespiti, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Erzurum.
- Association of Official Analytical Chemists**, 1990, Official methods of analysis. 15th ed. AOAC Inc., Arlington, VA.
- Ateş, G. ve Patır, B.**, 2001, Starter kültürlü tulum peynirinin olgunlaşması sırasında duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerinde meydana gelen değişimler üzerine araştırmalar, F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, 15(1), 45-56.
- Ateş, G.**, 1999, Starter kültürlü tulum peynirlerinin olgunlaşmaları sırasında duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerinde meydana gelen değişmeler üzerine araştırmalar, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, (Doktora Tezi), 120s.
- Atlas, R.M., Brown, A.E. and Parks L.C.**, 1995, Experimental Microbiology (Laboratory Manual), Ed: Fishback, J E., Mosby- Year Book, Inc, United States of America 565p.
- Audisio, M.C., Oliver, G. and Apella, M.C.**, 1999, Antagonistic effect of *Enterococcus faecium* J96, strain isolated from chicken, against human and poultry pathogenic *Salmonellae* species, Journal of Food Protection, 62, 751–755.
- Ayar, A.**, 1996. Çeşitli aroma maddelerinin Beyaz Peynirin duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerine etkileri üzerinde bir araştırma, (Doktora Tezi), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Aymerich, M.T., Garriga, M., Costa, S., Monfort, J.M. and Hugas, M.**, 2002, Prevention of ropiness in cooked pork by bacteriocinogenic cultures, International Dairy Journal, 12, 239–246.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Aymerich, M.T., Holo, H., Håvarstein, L.S., Hugas, M., Garriga, M. and Nes, I.F.**, 1996, Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins, *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1676–1682.
- Aymerich, T., Garriga, M., Ylla, J., Vallier, J., Monfort, J.M. and Hugas, M.**, 2000b, A pplication of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocuai* n Meat Products, *Journal of Food Protection*, 63,721-726.
- Azarnia, S., Ehsani, M. R. and Mirhadi, S.A.**, 1997, Evaluation of the physico-chemical characteristics of the curd curing the ripening of Iranian brine cheese, *International Dairy Journal*, 7, 473- 478.
- Başığit, G.**, 2004, Bazı laktik asit bte probiyotik olarak kullanılma özellikleri, Süleyman Demirel Ünivesitsi, Fen Bilimri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D. (Yüksek Lisans Tezi), Isparta.
- Bayar, N.**, 2008, Farklı ambalaj materyallerinin tulum peynirinin çeşitli kalite özelliklerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D. (Yüksek Lisans Tezi), Van, 106s.
- Ben Belgacem, Z., Abriouel, H., Ben Omar, N., Lucas, R., Martínez-Cañamero, M., Gálvez, A. and Manai, M.**, 2010, Antimicrobial activity, safety aspects, and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat, *Food Control*, 21, 462–470.
- Bhardwaj, A., Malik, R.K. and Chauhan, P.**, 2008, Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. *Indian Journal of Microbiology*, 48, 317–325.
- Bilgehan, H.**, 2002, Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi Üçüncü Baskı, İzmir: 495-523.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Bilgin, H.**, 2008. Fermente süt ürününden izole edilen bakteriyosinogenik bir bakterinin antimikrobiyal aktivitesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D., (Yüksek Lisans Tezi) 53s.
- Bostan, K. ve Uğur, M.**, 1992, Tulum peynirinde starter kültür kullanımını üzerine bir araştırma. İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 17(2), 111-118.
- Bover-Cid, S. and Holzapfel, W.H.**, 1999, Improved screening procedure for Biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 53, 33-41.
- Bracquart, P.**, 1981, An agar medium for the differentiation enumeration of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* in yoghurt, Journal of Bacteriology, 51, 303-305.
- Bulut, Ç.**, 2003, Isolation and Molecular Characterisation of Lactic Acid Bacteria From Cheese, (Yüksek Lisans Tezi), İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir, 102 s.
- Bulut, Ç., Günes, H., Okuklu, B., Harsa, S., Kılıç, S., Çoban H.S. and Yenidünya, A.F.**, 2005, Homofermentative lactic acid bacteria of a traditional cheese, Çömlek Peyniri from cappadocia region, Journal of Dairy Research, 72, 19-24.
- Callewaert, R., Hugas, M. and De Vuyst, L.**, 2000, Competitiveness and bacteriocin production of enterococci in the production of Spanish-style dry fermented sausages, International Journal of Food Microbiology, 57, 33-42.
- Canzek Majhenic, A., Rogelj, I. and Perko, B.**, 2005, Enterococci from Tolminc cheese: population structure, antibiotic susceptibility and incidence of virulence determinants, International Journal of Food Microbiology, 2, 239-244.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Carrasco de Mendoza, M., Meinardi, C.A., Meinardi, S.A. and Arturo, C.,** 1989, Actividad caseinolítica exocelular de enterococos para starters lácticos Revista Argentina de Lactología, 2, 27–37.
- Carrasco de Mendoza, M.S., Scarinci, M.S., Huerto-Garat, H.E., Simonetta, A.C.,** 1992. Technological properties of enterococci in lactic starters: acidifying and lipolytic activities. Microbiology Aliments Nutrition, 10, 289–293.
- Casalta, E. and Zennaro, R.,** 1997, Effects of specific starters on microbiological, biochemical and sensory characteristics of Venaco, a Corsican soft cheese, Science des Aliments, 17, 79-84.
- Casaus P.,** 1998, Aislamiento e identificación de bacterias lácticas de origen cárnico productoras de bacteriocinas. Caracterización bioquímica y genética de la enterocina P de *Enterococcus faecium* P13 y de la enterocina B de *Enterococcus faecium* T136, (Doctoral Thesis), Universidad Complutense, Madrid, Spain.
- Casaus, P., Nilsen, T., Cintas, L.M., Nes, I.F., Hernandez, P.E. and Holo, H.,** 1997, Enterocin B, a new bacteriocin from *Enterococcus faecium* T136 which can act synergistically with enterocin A, Microbiology, 143, 2287-2294.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Hermida, M.A. and Rodríguez-Otero, J.L.,** 1999, Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture, International Journal of Food Microbiology, 48, 97–111.
- Ceylan, Z.,**1998, Erzincan Tulum Peynirinin Baharatlı Çesitlerinin Yapılabilirliği Üzerine Arastirmalar. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Cheriguene, A., Chougrani, F., Bekada, A. M. A., El Soda, M. and Bensoltane, A.,** 2007, Enumeration and Identification of Lactic Microflora in Algerian Goats' Milk, *African Journal of Biotechnology*, 6(15), 1854-1861.
- Church, F.C., Swaisgood, H.E., Porter, D.H. and Catignani, G.L.,** 1983, Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins, *Journal of Dairy Science*, 66, 1219-1227.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Fernández, M.F. and Hernández, P.E.,** 1998, Comparative antimicrobial activity of enterocin L50, pediocin PA-1, nisin A and lactocin S against spoilage and foodborne pathogenic bacteria, *Food Microbiology*, 15, 289–298.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Håvarstein, L.S., Hernández, P.E. and Nes, I.F.,** 1997, Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec-dependent bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum, *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4321–4330.
- Cintas, L.M., Casaus, P., Havarstein, L.V., Hernandez, P.E. and Nes, I.F.,** 1997, Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec dependent bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum, *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4321-4330.
- Coşkun, H.,** 1995, Farklı Metotlarla Üretilen Otlı Peynirlerde Olgunlaşma Süresi Boyunca Meydana Gelen Değişmeler, (Doktora Tezi), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Çağlar, A.,** 2001, Çiğ süttten üretilen ve farklı ambalajlama materyallerinde olgunlaştırılan Erzincan tulum peynirlerinin mikrobiyolojik özelliklerindeki değişmeler, *Atatürk Üniviversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32 (3), 285-292.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Çakmakçı, S. ve Turgut, T.,** 2008, Probiyotiklerin patojenlerle rekabeti ve bazı sindirim sistemi bozukluklarına etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı, s.765-768, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Çakmakçı, S., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A.A., Gürses, M. and Gündoğdu, E.,** 2008, Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 293–299.
- Çıtak, S., Yucel, N. and Orhan, S.,** 2004, Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 57, 27.
- Dağdemir, E. and Özdemir, S.,** 2008, Technological characterization of natural lactic acid bacteria from artisanal Turkish white pickled cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 61(2), 133-140.
- Dağdemir, E. ve Özdemir, S.,** 2006, Süt ve Mamullerinde Enterokoklar. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu.
- Dağdemir, E.,** 2006, Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılabilirlik imkanları, (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Dağdemir, V.,** 2000, Erzincan İlinde Tulum Peynirinin İmalat Maliyeti ve Pazarlama Marjının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 24, 57–61.
- Dahlen, G., Samuelsson, W. and Molander, A.,** 2000, Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from root canal. *Oral Microbiology and Immunology*, 15, 309–312.
- Dave, R.I. and Shah, N.P.,** 1998, Ingredient supplementation effects on viability probiotic bacteria in yoğurt, *Journal of Dairy Science*, 81(11), 2804-2816.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- De Man, J., Rogosa, M. and Sharpe, E.,** 1960, A medium for the cultivation of lactobacilli, *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.
- Demirci, M. ve Şimşek, O.,** 1997, *Süt İşleme Teknolojisi*. ed: Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. İstanbul.
- Demirci, M.,** 1988, Çocukların ve gençlerin beslenmesinde sütün önemi, *Animolia*, 12, 21-24.
- Demiryol, İ.,** 1983, İnek, koyun ve keçi sütleri ile yapılan ve farklı sıcaklıklarda olgunlaştırılan beyaz peynirlerin özellikleri üzerine araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi (Doktora Tezi), İzmir
- Devriese, L.A. and Pot, B.,** 1995, The genus *Enterococcus* B.J.B. Wood, W.H. Holzapfel (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, vol. 2, Chapman & Hall, London, pp. 327–367
- Dinkçi, N.,** 1996, *Mucor miehei* ‘den elde edilen lipaz (Piccantase A) enziminin beyaz peynirin olgunlaşmasında kullanılması üzerine araştırmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), İzmir.
- Dovat, A.M., Reinbold, G.W., Hammond, E.G. and Vedamuthu, E.R.,** 1970, Lipolytic and proteolytic activity of enterococci and lactic group streptococci isolated from young Cheddar cheese, *Journal of Milk and Food Technology*, 33, 365–372.
- Durlu-Özkaya, F.,** 2001, Salamura Beyaz Peynirlerden izole edilen bazı laktokok, enterokok ve laktobasil suşlarının proteolitik aktivite, bakteriyosin ve biyojenamin oluşumu açısından karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Ankara.
- Elçioğlu, Ö.,** 2010, Kargı tulum peynir’inden izole edilen laktik asit bakterilerinin starter ve probiyotik kültür özelliklerinin belirlenmesi, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D., (Yüksek Lisans Tezi), Eskişehir, 130s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- El-Zayat, A. I., A. Goda, E. El-Bagoury, J-P. Dufour, S. Collin, and M. Osman.,** 1995., Bacteriological studies on Domiati cheese, Egyptian Journal of Dairy Science, 10(23), 239-247.
- Ennahar, S., Aoude-Weerner, D., Assobhei, O. and Hasselmann, C.,** 1998, Antilisterial activity of enterocin 81, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* WHE 81 isolated from cheese, Journal of Applied Microbiology, 85, 521–526.
- Eralp, M.,** 1967, İzmir ili süt ve mamülleri üzerinde bir araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 304, Ankara, 535s.
- Erbaş, M.,** 2006, Yeni bir gıda grubu olarak fonksiyonel gıdalar, Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı ; 24-26 Mayıs 2006, Bolu s.791-794.
- Erdoğan, A. and Gürses, M.,** 2005, Lactic Acid Bacteria Isolating From Blue Mouldy Tulum Cheese Produced With *Penicillium roqueforti*, International Journal of Food Properties, 8(2), 405-411p.
- Erginkaya, Z., Yurdakul, N.E. ve Karakaş, A.,** 2007, *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in starter ve probiyotik kültür özellikleri, GIDA, 32 (3), 137-142.
- Ergüllü, E.,** 1980, Koliform grubu bakterileri ve peynir teknolojisindeki zararlı etkileri, E.Ü. Zir. Fak. Derg. 20 (2), 93-99.
- Etöz, D.,** 2006, Kefirden izole edilen maya ve bakterilerin bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkisi, Gazi Ü. Fen. Bil. Ens. Biyoloji A.B.D. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 91s.
- Facklam, R.R. and Teixeira, L.M.,** 1998, *Enterococcus*. In Collier L, Balows A, Sussman M (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 2 (Systematic Bacteriology). 9th edition. London. Edward Arnold. pp: 669-682.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Garde, S., Gaya, P., Medina, M. and Nunez, M.,** 1997, Acceleration of flavour formation in cheese by a bacteriocin producing adjunct lactic culture, *Biotechnology Letters*, 19(10), 1011-1014.
- Gardiner, G.E., Ross, R.P., Wallace, J.M., Scanlan, F.P., Jagers, P.P.J.M., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K. and Stanton, C.,** 1999a, Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of Cheddar cheese, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 4907-4916.
- Gardiner, G.E., Stanton, C., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G. and Ross, R.P.,** 1999b, Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract, *Journal of Dairy Science*, 82, 1379-1387.
- Garvie, E.I.,** 1984, Taxonomy and Identification of Bacteria Important in Cheese and Fermented Dairy Products, *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Eds: Davies, F.L. and Law, B.A., Elsevier Applied Science Publishers London- New York, 253p.
- Georgala, A., Moschopoulou, E., Aktypis, A., Massouras, T., Zoidou, E. and Kandarakis, I.,** 2005, Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese, *Food Chemistry*, 93, 73-80.
- Gilmore, M.S., Segarra, R.A., Booth, M.C., Bogie, Ch.P., Hall, L.R. and Clewell, D.B.,** 1994, Genetic structure of *Enterococcus faecalis* plasmid pAD1-encoded cytolytic toxin system and its relationship to lantibiotic determinants, *Journal of Bacteriology*, 176, 7335– 7344.
- Giraffa, G. and Sisto, F.,** 1997, Susceptibility to vancomycin of enterococci isolated for dairy products, *Letters of Applied Microbiology*, 25, 335–338.
- Giraffa, G.,** 2003, Functionally of enterococci in dairy products, *International Journal of Food Microbiology*, 88, 215 – 222.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadizo, M.,** 2007, Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity, *Food Control*, 18, 716–722
- Gökovalı, T.,** 1980, Salamuralı tulum peynirinin olgunlaşması sırasında meydana gelen mikrobiyolojik değişiklikler üzerinde Araştırma, (İhtisas Tezi), 75s, Bornova-İzmir.
- Göncüoğlu, M., Bilir-Ormanlı, F.S. ve Kasımoğlu-Doğru, A.,** 2009, Beyaz peynir üretiminde *Enterococcus faecium*'un starter kültür olarak kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 56, 249-254.
- Gönç, S.,** 1974, Divle Tulum Peynirinin teknolojisi ve bileşimi üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(3), 515-533.
- Gönç, S., Uysal, H., Kılıç, S. ve Karagözlü, C.,** 1997, Geleneksel yöntemle ve kültür kullanılarak yapılan izmir tulum peynirinin olgunlaşması süresince meydana gelen değişikliklerin kıyaslanması, E.Ü. Araştırma Fonu, Araştırma Raporu, Proje No: 95 ZRF 005.
- Gripon, J.C., Desmazeaud, M., Et. Le Baes, D. and Bergere, J.H.,** 1975, Role of organisms and enzymes during maturation, *Le Lait*, 55, 502–516.
- Güler, Z. ve Uraz T.,** 2004. The quality and chemical properties of market Tulum cheese. *International Dairy Symposium (May 24-28, Isparta, Turkey)* p. 270-272.
- Güler, Z.,** 2000, Beyaz, kaşar ve tulum peynirlerinin serbest yağ asitleri ile duyu nitelikleri arasındaki ilişkiler üzerine bir araştırma, *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Ankara.*
- Güler, Z.,** 2004. Lypolysis and flavour quality of Tulum cheese in synthetic skin packages. *International Dairy Symposium, (May 24-28, Isparta, Turkey),* p.179-181.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Güley, Z.**, 2008, Doğal üretilen küflü peynirden izole edilen bazı laktik asit bakterilerinin aflatoksin B<sub>1</sub> ve aflatoksin M<sub>1</sub> üzerine etkisinin araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), İzmir.
- Gültekin, M.**, 2004, Probiyotikler, Aknem Dergisi, 18 (Ek 2), 87 - 89.
- Gürsel, A., Tunail, N., Gürsoy, A., Ergul, E. ve Aydar, L.Y.** , 1994, Yerli ve ithal fekal ve laktik grupstreptokoklar ile yerli ve laktobasil içeren starter kombinasyonlarının beyaz peynir üretiminde kullanılması, Kukem Dergisi,17, 1-14.
- Gürses, M. and Erdoğan, A.**, 2006, Identification of lactic acid bacteria isolated from Tulum cheese during ripening period, International Journal of Food Properties, 9, 551-557.
- Gürsoy, O. ve Kesenkaş, H.**, 2011, Peynir Mikrobiyolojisi: Peynir Biliminin Temelleri (Ed: A.A. Hayaloğlu ve B. Özer) s.79-110.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö.**, 2006a, Peynir teknolojisinde enterokolar-II: Koruyucu ve probiyotik kültür olarak kullanımları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43 (3), 91 – 100.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö.**, 2006b, Peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı: Probiyotik peynir, Pamukkale Üniv. Mühendislik Bilimleri Dergisi, 12 (1), 105-116.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö.**, 2010, Incorporation of adjunct cultures of *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium bifidum* into white cheese, Journal of Food, Agriculture & Environment, 8(2), 107 - 112 .
- Güven, M. ve Konar, A.**, 1994, İnek sütlerinden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan tulum peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri, Gıda Dergisi, 19(3), 179-185.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Güven, M.**, 1993, İnek, koyun, keçi sütlerinden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan tulum peynirlerinin özellikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma, (Doktora Tezi), Adana.
- Güven, M., Konar, A. ve Kleeberger, A.**, 1995, İnek, koyun ve keçi sütlerinden üretilen ve deri tulumlarda farklı sürelerde olgunlaştırılan tulum peynirlerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin saptanması üzerine karşılaştırmalı bir araştırma, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 19, 293-298.
- Hajikhani, R., Beyatli, Y. and Aslim, B.**, 2007, Antimicrobial activity of enterococci strains isolated from white cheese. International Journal of Dairy Technology, 60(2), 105.
- Harrigan, W.F.**, 1998, Laboratory Methods in Food Microbiology”, 3rd ed, Academic Press, London.
- Hassaïne, O., Zadi-Karam, H. and Karami, N-E.**, 2008, Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from three breeds dromedary raw milks in south Algeria, Emir. Journal of Food Agriculture, 20(1), 46-59.
- Hayaloglu, A.A., Çakmakçı S., Brenchany K.C., Deegan K.C. and McSweeney P.L.H.**, 2007a. Microbiology, biochemistry and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat’s skin or plastic bags. Journal of Dairy Science, 90, 1102-1121.
- Hill, H.S. and Guarner, F.**, 2004, Probiotics and human health: A clinical perspective, Postgard Medical Journal, 80, 516 – 526.
- Hinrichs, J. 2001.** Incorporation of Whey Proteins In Cheese, International Dairy Journal, 11, 495-503.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T.**, 1994, Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology, 9th edn. Baltimore: Williams & Wilkins.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Izquierdo, E., Marchioni, E., Aoude-Werner, D., Hasselmann, C. and Ennahar, S.,** 2009, Smearing of soft cheese with *Enterococcus faecium* WHE 81, a multi-bacteriocin producer, against *Listeria monocytogenes*, Food Microbiology, 26, 16–20.
- İşleröglü, H., Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M.,** 2008, Yöresel peynirden antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterisinin izolasyonu ve tanısı, G.O.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1), 1-6.
- Jamaly, N., Benjouad, A., Comunian, R., Daga, E., and Bouksaim, M.,** 2010, Characterization of *Enterococci* isolated from Moroccan dairy products, African Journal of Microbiology Research, 4(16), 1768-1774.
- Jensen, J.P., Reinbold, G.W., Washam, C.J. and Vedamuthu, E.R.,** 1973, Role of enterococci in cheddar cheese: growth of enterococci during manufacture and curing, Journal of Milk and Food Technology, 36, 613-618.
- Jensen, J.P., Reinbold, G.W., Washam, C.J. and Vedamuthu, E.R.,** 1975, Role of enterococci in Cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development, Journal of Milk and Food Technology, 38, 3-7.
- Jurkovic, D., Krizkova, L., Dusinsky, R., Belicova, A., Sojka, M., Krajcovic, J. and Ebringer, L.,** 2006. Identification and characterization of enterococci from bryndza cheese, Letters Applied Microbiology, 42, 553-559.
- Kala, E.,** 2006, Dondurulmuş gıdalarda (et ve sebze) fekal koliform ve fekal streptokokların varlığı, Gazi Ü. Fen Bil ens. Haziran 2006. Ankara, 102s.
- Kaleli, D. ve Durlu-Özkaya, F.,** 2000, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 17. Bölüm.



- Kalogridou-Vassiliadou, D., Tzanetakis, N. and Litopoulou-Tzanetaki, E.,** 1994, Microbiological and physicochemical characteristics of ‘Anthotyro’, a Greek traditional whey cheese, *Food Microbiology*, 11, 15–19.
- Karagözlü, C., Kınık, Ö., Akbulut, N.,** 2008, The effects of fully and partial substitution of NaCl by KCl on physico-chemical and sensory properties of White Pickled Cheese, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(3), 181-191.
- Karaibrahimoğlu, Y. ve Üçüncü, M.,** 1988, Erzincan Tulum Peynirinin işlem ve ürün parametrelerinin belirlenmesi, *Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri: B*, 6(2), 79-97.
- Karakaş, A.,** 2005. Beyaz Peynir ve fermente sucuklardan *Enterococcus faecium*’un izolasyonu ve tanılanması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D, (Yüksek Lisans Tezi), Adana, 111s.
- Karakuş, M.,** 1994, Beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri, *GIDA*, 19(4), 237-241.
- Karakuş, M., Borcaklı, M. ve Alperden, İ.,** 1992, Beyaz peynirin olgunlaşması süresince laktik asit bakterileri, *GIDA*, 17(6), 363-369.
- Karaman, A.D.,** 2007, Yağı Azaltılmış Beyaz Peynir Üretimi ve Özelliklerine Homojenizasyonun Etkisi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. (Doktora Tezi)*, İzmir.
- Kavas, N.,** 2011, Fonsiyonel keçi peyniri üretiminde sinbiyotik mikroenkapsüllerin kullanımı ve canlılıklarının incelenmesi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi)*, İzmir.
- Keleş, A. ve Atasever, M.,** 1996, Divle tulum peynirinin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu kalite nitelikleri. *Süt Teknolojisi*, 1(1), 47-53.
- Keleş, A.,** 1995,. Çiğ ve Pastörize Sünen Üretilen Tulum Peynirinin Farklı Ambalajlarda Olgunlaştırılmasının Kaliteye Etkisi Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi), S.O.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Kesenkaş, H.**, 2004, Beyaz Peynir üretiminde bazı mayaların starter kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), İzmir.
- Kesenkaş, H. and Akbulut, N.**, 2008, Yeasts as ripening adjunct cultures in Turkish White Brined Cheese Production, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 32(5), 327-333.
- Kılıç S. ve Gönç, S.**, 1990, İzmir tulum peynirinin kimi özellikleri zerine araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(3), 155-167.
- Kılıç S. ve Gönç, S.**, 1992, İzmir tulum peynirinin olgunlaşmasında rol oynayan mikroorganizma gruplarının belirlenmesi üzerine bir araştırma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 29, 71-78.
- Kılıç S.**, 1986, Orijini, Özellikleri, Oranları Farklı *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* Bakterileri İçeren Sıvı, Dondurulmuş ve Liyofilize Kùltürler ile Yapılan Yoğurtların Nitelikleri Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi), İzmir.
- Kılıç, S.** 2001, Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:542, İzmir.
- Kılıç, S. ve Gönç, S.**, 1990, İzmir Tulum peynirinin kimi özellikleri üzerinde araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(3), 169-188.
- Kılıç, S., Gönç, S., Uysal, H. ve Karagözlü, C.**, 1998, Geleneksel yöntemle ve kültür kullanılarak yapılan İzmir Tulum Peynirinin olgunlaşması sürecinde meydana gelen değişikliklerin kıyaslanması, V. Süt Ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 43-63, Tekirdağ.
- Kılıç, S. ve Vapur, U.E.**, 2003, Peynirde Acılık Problemi, Etki Eden Faktörler ve Kontrol Altına Alınması, Bilimsel Gıda Dergisi , 2003/4, 35.
- Kılıç, S.**, 2011, Peynir Starter Kùltürleri: Peynir Biliminin Temelleri (Ed: A.A. Hayaloğlu ve B. Özer) s.121-168.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Kılıç, S., Karagözlü, C., Uysal, H. ve Akbulut, N.,** 2002, İzmir piyasasında satılan bazı peynir çeşitlerinin kalsiyum, fosfor, sodyum ve potasyum düzeyleri üzerine bir değerlendirme, *Gıda*, 27(3), 229-234.
- Kırmacı, H.A.,** 2010, Geleneksel urfa peynirinde yer alan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve starter kültür olarak kullanım olanakları, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi), Şanlıurfa.
- Klein, G.,** 2003, Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 123– 131.
- Koca, N.,** 1996, Çeşitli starter kültür kombinasyonlarının İzmir Teneke Tulum Peynirinin nitelikleri üzerine Etkileri, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), İzmir.
- Koçak, C., Gürsel, A., Avşar, Y.K. ve Semiz, A.,** 1996, Ankara piyasasındaki tulum peynirlerinin bazı nitelikleri, *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 20, 121-125.
- Konar, A.,** 1998, Süt Teknolojisi, Ed: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No:140, 189 s.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn Jr, W.C.,** 2005, *Diagnostic Microbiology: Text and Atlas Colorido*. 5th. Edition, Medir, Rio de Janeiro, 1465 pp.
- Korucu, D.,** 2012, Tomas peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Tekirdağ.
- Kosikowski, F.,** 1982, *Cheese And Fermented Milks*, 2<sup>nd</sup> Ed., Edwards Broth. Inc. Ann. Arbor., Michigan.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Kosikowski, F.W. and Dahlber A.C.**, 1948, The growth and survival of *Streptococcus faecalis* in pasteurised milk and American Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 31, 285-292.
- Kouker, G. and Mossel, K.E.**, 1987, Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 211-213.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A.**, 1991, Erzincan tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine bir araştırma, *GIDA*, 16(5), 295-300.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A.**, 2007, Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi (9. Baskı). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 18, 254 s, Erzurum.
- Lertworapreecha, N., Poonsuk, K. and Chalermchiakit, T.**, 2011, Selection of potential *Enterococcus faecium* isolated from Thai native chicken for probiotic use according to the *in vitro* properties, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(1), 9-14.
- Leuschner, R.G., Kenneally, P.M. and Arendt E.K.**, 1997, Method for rapid quantitative detection of lipolytic activity among food fermenting microorganisms, *International Journal of Food Microbiology*, 37, 237-240.
- Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., and Vafopoulou-Mastrojiannaki, A.**, 1993, Effect of type of lactic starter on microbiological, chemical and sensory characteristics of Feta cheese, *Food Microbiology*, 10, 31-41.
- Lopez-Diaz, T. M., Alonso, C., Roman, C., Garcia-Lopez, M., and Moreno, B.**, 2000, Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese, *Food Microbiology*, 17, 23-32.
- Mallatou, H., Papa, E. and Massouras, T.**, 2003, Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 13, 211-219.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Martínez-Moreno, J.L.**, 1976, Microbial flora of Manchego cheese: III. Streptococci. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Serie General*, 4, 41–56.
- Mendez, S., Centeno, J.A., Godínez, R., and Rodríguez-Otero, J.L.**, 2001, Identification and characterization of enterococci and micrococci isolated from Tetilla cheese made from raw milk, *Alimentaria*, 38 (322), 67–73.
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A. and Lodi, R.**, 2006, Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north-west Italian dairy products, *International Dairy Journal*, 16, 867–875.
- Muguerza, B., Ramos, M., Sánchez, E., Manso, M.A., Miguel, M. and Aleixander, A.**, 2006, Antihypertensive activity of milk fermented by *Enterococcus faecalis* strains isolated from raw milk, *International Dairy Journal*, 16, 61–69.
- Muñoz, A., Ananou, S., Gálvez, A., Martínez-Bueno, M., Rodríguez, A., Maqueda, M. and Valdivia, E.**, 2007, Inhibition of *Staphylococcus aureus* in dairy products by enterocin AS-48 produced in situ and ex situ: bactericidal synergism with heat, *International Dairy Journal*, 17, 760–769.
- Navidghasemizad, S., Hesari, J., Saris, P. and Nahaei, M.R.**, 2009, Isolation of lactic acid bacteria from *Lighvan* cheese, a semi hard cheese made from raw sheep milk in Iran, *International Journal of Dairy Technology*, 62, 260–264.
- Neviani, E., Muchetti, G., Contarini, G. and Carini, S.**, 1982, Ruolo delle enterococcaceae nei formaggi italiani I. Loro presenza in formaggi di monte ed impiego in un innesto selezionato, II. Latte, 7, 722-728.
- Norrel, S.A. and Messley, K.E.**, 1997, *Microbiology Laboratory Manual, Principles and Applications*, Prentice Hall, Upper Saddle River. Ne Jersey.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Omafuvbe, B.O. and Enyioha, L.J.**, 2011, Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from selected commercial Nigerian bottled yoghurt, African Journal of Food Science, 5(6), 340 - 348,
- Oumer, A., Gaya, P, Fernandez-Garsia, E., Mariaca, R., Gadre, S., Medina, M. and Nunez, M.**, 2001, Proteolysis and formation of volatile compounds in cheese manufactured with a bacteriocin-producing adjunct culture, Journal of Dairy Research, 68, 117-1219.
- Oysun, G.**, 1996, Süt ve Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. Ege Üni. Ziraat Fak. Yayınları, No: 504, Bornova, İzmir, 306s.
- Öksüztepe, G., Patır, B. and Çalıcıoğlu M.**, 2005. Identification and distribution of lactic acid bacteria during the ripening of Savak Tulum cheese, Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 29, 873-879.
- Öner, Z., Sağdıç, O. ve Şimşek, B.**, 2002, Tulum peynirlerinin özellikleri ve laktik mikroflorasının belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi, SDÜ-AF 380, Isparta.
- Öner, Z., Karahan, A., ve Aloğlu, H.**, 2005, Starter kültür kullanılarak yapılan tulum peynirlerinin bazı özellikleri, GIDA, 30(1): 57-62.
- Öner, Z., Simsek, B. and Sağdıç, O.**, 2003, Determination of some properties of Turkish Tulum Cheese, Milchwissenschaft, 3(4), 152-154.
- Öztek, L.**, 1985, Organik asitlerin önemi ve peynirin kalitesi üzerine etkileri, GIDA, 10(4), 247-254.
- Öztürk, Y.G. ve Nazlı, B.**, 1996, Deneysel olarak enfekte edilen sütle yapılan tulum peynirlerinde *Brucella melitensis*' in mevcudiyeti üzerine araştırmalar (1), Pendik Veteriner Mikrobiyolojisi Dergisi, 27 (2): 123-142.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Padiglione, A.A., Wolfe, R. and Grabsch, E.A.,** 2003, Risk factors for new detection of vancomycin-resistant enterococci in acute-care hospitals that employ strict infection control procedures, *Antimicrob Agents Chemother*, 47: 2492- 2498.
- Patır, B.,** 1987, Şavak Salamura Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında enterotoksijenik koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus*'un yaşam süreleri ile mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerinde meydana gelen değişmeler. *Doğa Veterinerlik ve Hayvan Hijyeni Dergisi*, 11(1): 59-71.
- Rasic, J.I. and Kurman, J.A.,** 1978, Cultures and Starters Part III, Chapter, 10, 186-213. *Quality Control Part VI*, 369-379.
- Recsei, P.A., Moore, W.M. and Snell, E.E.,** 1985, Pyruvoly-dependent histidine decarboxylases from *Clostridium perfringens* and *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Biology and Chemistry*, 258, 439-444.
- Renner, E.,** 1993, Practical handouts to the milk, *Justus Liebig Universitat*, Giesen, Germany, 76 (Almanca).
- Reuter, G.,** 1995, Culture media for enterococci and group D streptococci. In *Culture Media for Food Microbiology Progress in Industrial Microbiology* Ed. Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W. and Baird, R.M. pp. 51–61. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences.
- Rossi, E.A., Vendramini, R.C., Carlos, I.Z., Pei, Y.C. and De Valdes, G.F.,** 1999, Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties, *European Food Research Technology*, 209, 305-307.
- Rowland, S.J.,** 1938, The determination of the nitrogen distribution in milk, *Journal of Dairy Research*, (9); 42-46.
- Ruoff, K.L., de la Maza, L., Murtagh, M. J., Spargo, J.D. and Ferraro, M.J.,** 1990, Species identities of enterococci from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 435–437.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Saavedra, L., Taranto, M.P., Sesma, F. and Valdez, G.F.,** 2003. Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains, *International Journal of Food Microbiology*, 88, 241-245.
- Sabia, C., de Niederhäusern, S., Messi, P., Manicardi, G. and Bondi, M.,** 2003, Bacteriocin-producing *Enterococcus casseliflavus* IM 416K1, a natural antagonist for control of *Listeria monocytogenes* in Italian sausages (“cacciatore”) *International Journal of Food Microbiology*, 87, 173–179.
- Sánchez Valenzuela, A., Ben Omar, N., Abriouel, H., Martínez-Cañamero, M. and Gálvez, A.,** 2010, Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from sea foods: antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances, *Food Microbiology*, 27, 955–961.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E.,** 2001., Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, 11, 621– 647.
- Schlesser, J.E., Schmidt, S.J. and Speckman, R.J.,** 1992, Characterization of chemical and physical changes in Camambert cheese during ripening, *Journal of Dairy Science*, 75, 1753-1760.
- Serio, A., Chaves-López, C., Paparella, A. and Suzzi, G.,** 2010, Evaluation of metabolic activities of enterococci isolated from Pecorino Abruzzese cheese, *International Dairy Journal*, 20(7), 459–464.
- Sert, D. ve Akın, N.,** 2008, Türkiye’de Bazı Önemli Tulum Peyniri Çesitlerinin Geleneksel Üretim Metotları, Türkiye 10. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı, 21-23 Mayıs, Erzurum, pp.717-720.
- Shahani, K.M., Vakil, J.R. and Kilara, A.,** 1976, Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*, Cultural conditions for the production of antibiosis, *Cultured Dairy Products Journal*, 11, 14–17



**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Silva do Nascimento, M., Moreno, I. and Yoshiteru Kuaye, A., 2010.** Antimicrobial activity of *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 against gram-positive pathogens, Brazilian Journal of Microbiology, 41(1), São Paulo Jan./Mar. 2010.
- Strompfová, V. and Laukova, A., 2007,** In vitro study on bacteriocin production of enterococci associated with chickens, Anaerobe, 13, 228–237.
- Suzzi, G., Lombardi, A., Lanorte, M.T., Caruso, M., Andrighetto, C. and Gardini, F., 2000,** Characterization of autochthonous enterococci isolated from Semicotto Caprino Cheese, a traditional cheese produced in Southern Italy, Journal of Applied Microbiology, 89, 267–274.
- Şahin, M., 1980,** Beyaz, kaşar ve tulum peynirlerinde meydana gelen fire ve nedenleri üzerine araştırmalar, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 732, Ankara.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H. ve Ekici, K., 2005,** İnek Sütünden Üretilerek Cam Kavanozlarda Olgunlaştırılan Tulum Peynirinin Bazı Özellikleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(1), 9-14.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H. ve Ekici, K., 2005,** İnek Sütünden Üretilerek Cam Kavanozlarda Olgunlaştırılan Tulum Peynirinin Bazı Özellikleri, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(1), 9-14.
- Tavaria, F.K. and Malcata, F.X., 1998,** Microbiological characterization of Serra da Estrela cheese throughout its Appellation d'Origine Protégée Region, Journal of Food Protection, 61, 601–607
- Teixeira, L.A. and Facklam, R.R., 2003,** Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). Manual of Clinical Microbiology. Eighth edition, Washington. ASM Pres. pp: 422-433, 2003.,

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Teixeira, L.M., Carvalho, M.G.S. and Facklam, R.R., 2007, *Enterococcus*. In:** Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds), Manual of Clinical Microbiology (9th ed) ASM Press, Washington DC, pp. 430-442.
- Tekinşen, K.K. ve Uçar, G., 2007, Konya Yöresinde Üretilen Mahalli Tulum Peynirleri, Akademik Gıda Dergisi, Ocak-Şubat, 25, 33.37.**
- Tekinşen, O.C., 1978, Kaşar peynirinin olgunlaşması sırasında mikrofloranın, özellikle laktik asit bakterilerinin lezzete etkisi ve İç Anadolu Bölgesi'nde üretilen ticari kaşar peynirinin kalitesi üzerinde incelemeler, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, VHAG proje No: 354, TÜBİTAK, Ankara.**
- Tekinşen, O.C., 2000, Süt Ürünleri Teknolojisi, 3. baskı, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, s. 217-218.**
- Temmerman, R. Pot, B. Huys, G. and Swings, J., 2002, Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products, International Journal of Food Microbiology, 81, 1-10.**
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J., 2003, Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. International Journal of Food Microbiology, 81, 1-10.**
- Terzaghi, B.E. and Sandine, W.E., 1975, Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages, Applied and Environmental Microbiology, 29, 807-813.**
- Teuber, M., 1995, The Genus *Lactococcus*, The Genera of Lactic Acid Bacteria, The Lactic Acid Bacteria, 173-234, Eds: Wood, B.J.B. and Holzapfel, W. H., Vol: 2, Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman & Hall, Glasgow Pp:398.**
- Toğay, S.Ö. ve Temiz, A., 2011, Gıda kaynaklı enterokokların gıda ve insan sağlığı açısından önemi, GIDA, 36(5), 303-310.**

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Tomita, H., Fujimoto, S., Tanimoto, K. and Ike, Y.,** 1996, Cloning and genetic organization of the bacteriocin 31 determinant encoded on the *Enterococcus faecalis* pheromone-responsive conjugative element pYI17, *Journal of Bacteriology*, 178, 3585– 3593.
- Torres-Llanez, M.J., Vallejo-Cordoba, B., Diaz-Cinco, M.E., Mazorra-Manzano, M.A. and Gonzalez-Cordova, A.F.,** 2006, Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese, *Food Control*, 17, 683–690.
- Tunail, N. ve Köşker, Ö.,** 1986, Süt Mikrobiyolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 966, Ankara.
- Tuncer, Y.,** 2009, Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese, *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7008-7016.
- Tzanetakis, N., Vafopoulou-Mastrojiannaki, A. and Litopoulou-Tzanetaki, E.,** 1995, The quality of white-brined cheese from goat's milk made with different starters, *Food Microbiology*, 12, 55–63.
- Ulusoy, S., Usluer, G. ve Ünal, S.,** 2004, Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Gram pozitif bakteri infeksiyonları, *Bilimsel Tıp Yayınevi*, 121-185.
- Üçüncü, M.,** 2004, A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi (Cilt I), Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 543 Sayfa. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Van Belkum, M.J., Hayema, B.J., Geis, A., Kok, J. and Venema, G.,** 1989, Cloning of two bacteriocin genes from a lactococcal bacteriocin plasmid, *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1187-1191.
- Van de Castele, S.T., Vanheuverzwijn, T. Ruysen, P. Van Assche, J. Swings and Huys, G.,** 2006, Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters, *International Dairy Journal*, 16, 1470–1476.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Venema, D.P., Herstel, H. and Elenbaas H.L.,** 1987, Determination of the ripening time of Edam and Gouda Cheese by chemical analysis, Netherlands Milk Dairy Journal, 41, 215-216.
- Villani, F. and Coppola, S.,** 1994, Selection of enterococcal strains for water-buffalo Mozzarella cheese manufacture, Annual Microbiology and Enzimology, 44, 97–105.
- Volikakis, P., Biliaderis C.G., Vamvakas C. and Zerfiridis G.K.,** 2004. Effect of a commercial oat-beta-glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low-fat white-brined cheese product. Food Research International, 37, 83-94.
- Vuyst L.D., Moreno, M.R. and Revets, H.,** 2003, Screening for Enterocins and Detection of Hemolysin and Vancomycin Resistance in Enterococci of Different origins. International Journal of Food Microbiology, 84, 299-318.
- Wallace, D.L. and Harmon, L.G.,** 1970, Intracellular protease from *Streptococcus durans*, Journal of Dairy Science, 53, 394–402.
- Wessels, D., Jooste, P.J. and Mostert, J.F.,** 1990, Technologically important characteristics of *Enterococcus isolates* from milk and dairy products International Journal of Food Microbiology, 10, 349–352.
- Yaşar, B. ve Kurdaş, O.Ö.,** 2009, Probiyotikler ve gastrointestinal sistem (Probiyotik teriminin tarihçesi ve tanımı, Güncel Gastroenteroloji, 13/1, 23-28.
- Yaygın, H. ve Kılıç, S.,** 1993, Süt Endüstrisinde Saf Kültür. Altındağ Matbaacılık, İzmir, 108 s.
- Yaygın, H.,** 1971, Salamuralı tulum peynirinin yapılışı ve özellikleri üzerinde araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, (1),

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Yetişmeyen, A.**, 1995, Süt Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Halkla İlişkiler ve Yayın Ünitesi, sayfa 179. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Yayın No:1420, Ders Kitabı: 410.
- Yıldız, Ö. ve Ötleş, S.**, 2010, Peynirde aroma oluşumu: Biyokimyasal bakış, Süt Dünyası Dergisi, Kasım-Aralık
- Yılmaz, G., Ayar, A. ve Akın, N.**, 2004, The effect of microbial lipase on the lipolysis during ripening of Tulum cheese. Journal of Food Engineering, 1-6.
- Yoon, M.Y., Kim, Y.J. and Hvang, H-J.**, 2008, Properties and safety aspects of *Enterococcus faecium* strains isolated from Chungkukjang, a fermented soy product, LWT-Food Science and Technology, 41, 925 – 933.
- Yousif, N.M.K., Dawyndt, P., Abriouel, H., Wijaya, A., Schillinger, U., Vancanneyt, M., Swings, J., Dirar, H.A, Holzappel, W.H. and Franz, C.M.A.P.**, 2005, Molecular characterisation, technological properties and safety aspects of enterococci from ‘Hussuwa’, an African fermented sorghum product, Journal of Applied Microbiology, 98, 216–228.
- Yüksekdağ, Z.N. ve Beyatlı, Y.**, 2003, Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(2), 49-69.
- Zárate, V., Belda, F., Pérez, C. and Cardell, E.**, 1997, Changes in the microbial flora of Tenerife goat's milk cheese during ripening, International Dairy Journal, 7, 635–641.

## ÖZGEÇMİŞ

Oktay YERLİKAYA 03.06.1982 tarihinde İzmir'de doğdu. İlköğrenimini Alparslan İlköğretim Okulunda, orta öğrenimini ise İzmir Menderes Lisesi'nde tamamladı. 1999 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvansal Üretim Programını kazanıp, 2005 yılında Süt Teknolojisi Alt Programı'ndan mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimi ile Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2008 yılında “Kaparili Beyaz Peynir Üretimi ve Kalite Özellikleri Üzerine Bir Araştırma” konulu yüksek lisans tezini tamamlayarak Ziraat Yüksek Mühendisi ünvanı aldı ve aynı yıl Mühendis kadrosuna atandı. 2009 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı ve 2012 yılının Aralık ayında “Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden Probiyotik Özellikteki *Enterococcus* Türlerinin İzolasyonu, Tanılanması ve İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Destek Kültür Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması” konulu doktora tezini tamamlayıp doktor ünvanı aldı. Halen Süt Teknolojisi Bölümü'nde Mühendis olarak görevine devam eden Oktay Yerlikaya'nın uzmanlık alanları süt teknolojisi, süt mikrobiyolojisi ve saf kültür üretim teknolojisidir.

## **EKLER**

### **EK 1 Enterokokların izolasyon, fenotipik tanımlama ve özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri ve çözeltiler**

#### **Farklı Sıcaklıkta Gelişme Besiyeri**

	<b><u>g/litre</u></b>
Pepton	15,6 g
Yeast Extract	2,8 g
NaCl	5,6 g
Glucose	10,0 g
Destile Su	1000 ml

pH:  $7,5 \pm 0,1$ 'e ayarlanır, tüplere doldurulur ve  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

#### **Farklı Tuz Konsantrasyonunda Gelişme Besiyeri**

Pepton 10,0 g

Lablemco 10,0 g

Glucose 10,0 g %2 tuz için %4 için %6,5 için

NaCl 5,0 g +15 g +35 g + 60 g

Destile Su 1000 ml NaCl ilave edildi.

Bromthymolblue(indikatör) 10 ml

Manyetik karıştırıcıda karıştırılarak eritilir. pH:  $7,5 \pm 0,1$ 'e ayarlanır, tüplere doldurulur ve  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### **Bromthymolblue İndikatör Cözeltisi**

Bromthymolblue 1 g

NaOH(0.1N) 25 ml

Destile su 475 ml

### **pH 9.6'da Gelişme Besiyeri**

	<b>g/litre</b>
A- Lablemco	10,0 g
Pepton	10,0 g
Glucose	10,0 g
NaCl	5,0 g
Destile Su	1000 ml

### **B- Tampon Cözelti**

	<b>g/litre</b>
Glycocoll	7.505 g
NaCl	5.850 g
Destile Su	1000 ml

Hazırlanışı: 900 ml besiyerine(A) 100 ml tampon çözeltisi(B) ilave edilir. 10 ml indikatör çözeltisi ilave edilir ve 0,1N NaOH ile pH: 9,8'e ayarlanır. 1gece bekletilir. Süzülür. Tüplere doldurulur, (araştırmamızda 1'er ml olarak eppendorf tüplerine doldurulmuştur) 121°C'de 20 dak. otoklavlanır. Son pH 9,6 olmalıdır. 2 gün içerisinde kullanılmalıdır.



### **Esculin (Hidrolizi) Parçalanması Testi İçin Besiyeri**

	<b>g/litre</b>
Meat extract (veya Lablemco)	10,0 g
Pepton	10,0 g
NaCl	5,0 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	2,0 g
Destile Su	1000 ml

Besiyerine %0,1 oranında Esculin ilave edilir. pH: 7,5±0,1'e ayarlanır. Tüplere doldurulur, 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### **Argininden Amonyak Oluşumu Testi İçin Besiyeri**

	<b>g/litre</b>
Tryptone (peptone from casein)	5.0 g
Yeast extract	2.5 g
D-Glucose	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.0 g
L-arginine monohydrochloride	3.0 g
Destile Su	1000 ml

Manyetik karıştırıcıda karıştırılarak eritilir. pH: 7.0'e ayarlanır. Tüplere doldurulur, 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### Nessler Cözeltisi

	<b>g/litre</b>
KI	70 g
HgI <sub>2</sub>	100 g
KOH	100 g
Destile su	1000 ml

KI ve HgI<sub>2</sub> önce 400 ml destile suda çözülür. KOH ise 500 ml destile suda çözülür ve soğutulur. Hazırlanan bu iki çözelti karıştırılır ve 1 litre'ye tamamlanır. Berrak kısım alınır ve kahverengi şişede saklanır.

### % 7 FeCl<sub>3</sub> Cözeltisi

7g FeCl<sub>3</sub> saf suda eritilip 100 ml'ye tamamlanır.

### Karbonhidrat Fermentasyon Testi İçin Besiyeri-1

	<b>g/litre</b>
Meat Extract (veya Lablemco)	10 g
Pepton	10 g
NaCl	3 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Destile Su	1000 ml
İndikatör (Bromthymolblue)	20 ml

pH'sı 7.5± 0.1'e ayarlanır. Tüplere doldurularak 121°C'de 15 dak. Otoklavda sterilize edilir.

## **Karbonhidrat Fermentasyon Testi İçin Besiyeri-2**

### **(Phenol Red Broth)**

	<b>g/litre</b>
Peptone from casein	5,0
Peptone from meat	5,0
NaCl	5,0
Phenol red	0,018

Tüplere bakteri ilavesinden sonra uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılır. Bu sürenin sonunda rengin sarıya dönüşmesi bakterinin, denenen karbonhidrattan asit oluşturduğunu (karbohidratı fermente ettiğini) gösterir. Karbohidrat konsantrasyonu % 1 olarak belirlenmiştir. Karbonhidratların çoğu sterilizasyondan önce %1 oranında besiyerine ilave edilir. Ancak maltoz, mannitol, arabinoz, mannoz, rhamnose ve xylose ısıya dayanıklı olmadıkları için bunların %5 lik çözeltileri hazırlanır ve filtre sterilize (0.20µm Minisart®, Sartorius) edilir. Besiyeri otoklavlandıktan sonra litresine 200 ml olacak şekilde ilave edilir.

### **Moeller Decarboxylase Broth Base**

	<b>g/litre</b>
Peptic Digest of Animal Tissue	5.0 g
Beef Extract	5.0 g
Dextrose	0.5 g
Bromcresol Purple	0.01 g
Cresol Red	0.005 g
Pyridoxal	0.005 g

Besi yeri pH'sı  $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanır. Lisin/arginin/ornithin amino asit ilave oranı 5g/litre şeklinde yapılmakta ve pH ayarlandıktan sonra otoklavlanmaktadır.

### **M-17 Broth (Merck 1.15029)**

	<b>g/litre</b>
Polypepton	5,0
Phyton pepton	5,0
Meat extract	2,5
Yeast extract	2,5
Lactose	5,0
Ascorbic acid	0,5
$\beta$ -disodium glycerophosphate	19,0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,25 (25 ml %1'lik çözültiden)
Destile su	1000 ml

Manyetik karıştırıcıda karıştırılarak eritilir. pH:  $7.2 \pm 0.1$ 'e ayarlanır, tüplere doldurulur ve 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### **Tributyryn Agar (Merck, 1.01957)**

	<b>g/litre</b>
Peptone from meat	2,5
Pepton from casein	2,5
Yeast extract	3,0
Agar	12,0
Neutral tributyrin	10 mL

Dehidre besiyeri 1000mL damıtık su içinde eritilir, üzerine 10 mL/L Neutral tributyrin (Glycerol tributryate; Merck 1.01958) katılır. Isıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilir. Besi yerinin 25 °C'de pH'sı  $7,5 \pm 0,2$ 'dir.

**Kanamycin Aesculin Azide Broth (LabM, LAB107)**

	<b>g/litre</b>
Tryptone	20.0
Yeast Extract	5.0
Sodium chloride	5.0
Sodium citrate	1.0
Aesculin	1.0
Ferric ammonium citrate	0.5
Sodium azide	0.15
Kanamycin sulphate	0.02
Destile Su	1000mL

Manyetik karıştırıcıda karıştırılarak eritilir. pH:  $7.0 \pm 0.2$ 'e ayarlanır tüplere doldurulur ve 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir. Kanamycin Esculin Azide Broth, D Grubu enterokokların (*Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*) izolasyonu ve enterokok olmayan D grubu streptokok veya diğer streptokok türlerinden ayırt edilmeleri için kullanılan bir besiyeridir. D Grubu enterokoklar besiyerini bulanıklaştırıp rengini sarı (yeşilimsi sarı)-kahverengiye dönüştürmektedirler.

**Slanetz Bartley Medium (Merck, 1.05262)**

	<b>g/litre</b>
Tryptose	20,0
Yeast extract	5,0
D(+) Glucose	2,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,0
Sodium azide	0,4
2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride	0,1
Agar	10,0 g/L

Enterit refakatçi Gram negatif mikrobiyel flora besiyeri içeriğindeki sodium azide ile baskılanır. Enterokoklar TTC'yi formazan'a indirger ve böylece kırmızı renkli koloniler oluşturur. Dehidre besiyeri tartılarak 1000mL damıtık su içinde agar eriyinceye kadar kaynatılır ve sonra hızlıca 45-50 °C'ye soğutulur. Bu besiyeri otoklavlanmaz. Hazırlanmış besiyeri berrak, sarımsı-kahve renktedir ve 25 °C'de pH'sı 7,2 ± 0,2'dir.

## **EK 2 Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerlerinin Bileşimleri**

### **MRS Agar (Merck 1.10660)**

	<b>g/litre</b>
Pepton	10,0
Meat extract	10,0
Yeast extract	5,0
D(-) Glucose	20,0
Tween 80	1 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,0
Sodium acetate	5,0
Triammonium citrate	2,0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 (20 ml %1'lik çözeltiden)
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,05 (5 ml %1'lik çözeltiden)
Agar	15,0
Destile su	1000 ml

Bileşenler 1000 ml destile suda eritilir. Daha iyi erime sağlamak için kaynayan su banyosunda bekletilir. pH: 5.8'e ayarlanır ve 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### **M<sub>17</sub> Agar (Merck 1.15108)**

	<b>g/litre</b>
Polypepton	5,0
Phyton pepton	5,0
Meat extract	2,5
Yeast extract	2,5
Lactose	5,0
Ascorbic acid	0,5
$\beta$ -disodium glycerophosphate	19,0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,25 (25 ml %1'lik çözeltiden)
Agar	12,0
Destile su	1000 ml

Bileşenler 1000 ml destile suda eritilir. Daha iyi erime sağlamak için kaynayan su banyosunda bekletilir. pH:  $7.2 \pm 0.1$ 'e ayarlanır ve 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.

### **Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Merck)**

	<b>g/litre</b>
Yeast extract	5,0
D(+) Glucose	20,0
Chloramphenicol	0,1
Agar	14,9

Dehidre besiyeri 40,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilir. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilir ve 45-50 °C'a soğuduğunda steril Petri kutularına 12,5'er mL dökülür. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsıdır, 25 °C'da pH'sı  $6,6 \pm 0,2$ 'dir. Granül yapıda olmasının avantajı ile tüm katkıları bileşimde bulunur, besiyeri hazırlanması sırasında ilave katkıya gerek yoktur.



**Kanamycin Aesculin Azide Agar (Merck, 1.05222)**

	<b>g/litre</b>
Pepton from casein	20,0
Yeast extract	5,0
NaCl	5,0
Sodium citrate	1,0
Sodium azide	0,15
Kanamycine Sulphate	0.02
Esculine	1,0
Ammonium-fer(III) citrate	0,5
Agar	15,0
Destile Su	1000 ml

Bileşenler 1000 ml destile suda eritilir. Daha iyi erime sağlamak için kaynayan su banyosunda bekletilir. pH:  $7.1 \pm 0.2$ 'e ayarlanır ve 121°C'de 15 dak. otoklavda sterilize edilir.



### EK 3

Enterokok türlerinin fenotipik tanımlanmasında kullanılan özellikler (Garvie, 1984; Devriese and Pot, 1995; Teuber, 1995; Franz et al., 2003; Klein, 2003; Güley, 2008)

<i>Enterococcus</i> Türleri	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				% 6.5 Tuz	9.6 pH'da Gelişme	Eskülin Hidrolizi	Argininde n NH <sub>3</sub>	Glukoz	Salisin	Trehaloz	Maltoz	Mannitol	Sorbitol	Sorbitol	Arabinoz	Rafinoz	Sukroz	laktoz	Melobiyoz
	10	30	45	50																
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+/-	+	+	D(+)
<i>E. durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	D(-)	-	+	-
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>E. faecalis</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>E. faecium</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K1E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K1E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K1E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K1E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K1E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	
K2E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	-	+	+	-	
K2E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K2E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
K2E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K3E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
K3E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K3E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K5E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K5E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K5E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K7E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K7E2	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K7E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K8E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	
K8E4	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K8E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K11E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K11E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K11E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K12E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K12E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K13E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K13E2	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	
K13E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	
K15E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K15E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K15E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K16E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K16E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K16E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K17E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K17E2	<i>Enterococcus hirae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	
K17E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	
K18E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K18E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	
K18E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	Z	
K18E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	Z	
K40E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K40E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	+	-	-	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K40E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K40E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z		-	-	-	-	-	-	
K41E1	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K41E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	
K50E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	
K50E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	-	+	+	+	-	
K51E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		-	Z	-	-	+	-	
K51E2	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K51E3	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K60E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K60E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	-	-	-	-	-	-	-	
K60E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	-	-	-	-	-	-	
K60E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	
K61E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K61E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
K61E4	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K61E5	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	-	-	-	-	-	-	
K62E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K62E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K62E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K62E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
NRRL-B2954	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
RA212	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K39E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K63E1	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K63E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K63E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	-	-	-	+	-	-	
K63E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	Z	-	-	+	-	
K64E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K64E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	Z	Z	-	-	+	-	
K64E3	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
K64E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K64E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K64E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K65E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K65E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	Z	-	+	+	-	
K65E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K65E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K65E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	-	-	-	+	+	-	
K65E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K66E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K66E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	-	-	+	-	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K66E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K66E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
<b>NRRL-B3502</b>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
<b>ATCC29212</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K63E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K63E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K63E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	Z	+	+	+	-	
K67E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	
K67E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	-	-	+	-	-	-	
K67E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
K67E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K67E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K67E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K68E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K68E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
K68E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K68E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Z	-	+	+	-	
K68E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K68E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	
K69E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K69E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon



**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K69E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K69E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	+	-	
K69E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	
K69E6	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	
K70E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
K68E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K71E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K71E2	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K71E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K71E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K71E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K71E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K72E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K72E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K72E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K72E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K72E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	
K72E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K72E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K73E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	
K73E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
K73E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	-	-	+	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K73E5	<i>Enterococcus hirae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	
K73E6	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	
K74E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K74E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	
K75E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	+	-	+	+	-	
K75E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	+	-	+	+	-	
K75E1	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	+	+	-	-	-	+	-	
K75E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
K75E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K75E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	
K76E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	
K76E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K76E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
K76E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	
K76E5	<i>Enterococcus faecalis var.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
K76E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K77E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K77E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	
K77E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K77E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	
K77E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	
K77E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

**EK 4** Çiğ Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Fenotipik Özellikleri (Devam)

İzolat No	Fenotipik Tanımlama	Farklı Sıcaklıklarda Gelişme (°C)				Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme			Eskülin Hidrolizi	Argininden NH <sub>3</sub>	9.6 pH	Trealoz	Laktoz	Fruktoz	Galaktoz	Maltoz	Melobiyoz	Salisin	Sakkaroz	Sorbitol	Rafinoz	Arabinoz	Mannitol	İnulin
		10	40	45	50	% 2	% 4	% 6.5																
K78E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K74E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K78E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K78E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K78E4	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K78E5	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K78E6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
K78E7	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	
K79E1	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K79E2	<i>Enterococcus faecium</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
K79E3	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K79E4	<i>Enterococcus faecium</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
K79E5	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
K80E1	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
K80E2	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K80E3	<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	
K80E4	<i>Enterococcus faecium</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
K80E5	<i>Enterococcus faecium</i> var.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
<b>GE66</b>	<i>Enterococcus durans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
<b>UWWE3080</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	
<b>UWWE3102</b>	<i>Enterococcus hirae</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

## **EK 5 İzmir Tulum Peynirlerinin kalite kriterleri ve derecelendirme**

### **Yüzey Görünümü**

- \*Düzgün ve pürüzsüz görünümde; yaklaşık 1-2mm çapında ve muntazam şekilli sık ve homojen gözenek dağılımı.....5
- \*Düzgün ve pürüzsüz görünümde; homojen olmayan küçük gözenek dağılımı.....4
- \* Düzgün olmayan ve pürüzlü görünümde; çok küçük (1mm'den) veya orta irilikte (3-4mm), muntazam olmayan hafif seyrek gözenek ve yarıklar.....3
- \* Düzgün olmayan ve pürüzlü; iri ve seyrek gözenek ve yarıklar.....2
- \* Aşırı derecede iri gözenek veya gözeneksiz veya kabul edilemez düzeyde yarıklar.....1

### **Renk**

- \* Parlak açık sarı veya homojen renk.....5
- \* Açık sarı fakat kabul edilebilir düzeyde homojen olmayan renk dağılımı.....4
- \* Donuk sarı veya beyaza yakın renk veya homojen olmayan renk dağılımı.....3
- \* Koyu sarı veya beyaz renk veya belirgin renk değişimleri.....2
- \* Belirgin esmer renk, kenarda ve ortada belirgin derecede değişik renk oluşumları..... 1

### **Doku**

- \* Normal sertlikte ve ufalanmayan, ağızda sıvaşmayan ve kolayca dağılan.....5
- \* Kabul edilebilir sertlikte, ağızda sıvaşmayan ve kolay dağılan.....4
- \* Hafif yumuşama veya sertlik; kırılabilirlik veya elastiklik; ağızda hafif sıvaşma.....3
- \* Belirgin derecede yumuşak veya sert veya dağılan yapıda, ağızda sıvaşan.....2
- \* Aşırı derecede yumuşak veya sert, ağızda çok sıvaşan.....1

### **Lezzet**

- \*Kendine özgü İzmir Teneke Tulum peyniri lezzetinde.....5
- \* Kendine özgü lezzette fakat hafif tuzlu.....4
- \* Acılık veya ekşilik veya tuzluluk veya olgunlaşmamış peynir tadı.....3
- \* Belirgin ekşilik veya tuzluluk veya acılık veya küfümsü ve yabancı lezzet.....2
- \* Kabul edilemez düzeyde tuzlu veya yavan tat; keskin, ekşi, küflü lezzet.....1

### **Tüm İzlenim**

- \* Çok fazla beğendim.....5
- \* Çok beğendim.....4
- \* Beğendim.....3
- \* Az beğendim.....2
- \* Beğenmedim.....1

**EK 6** İzmir Tulum Peyniri örneklerinin duyusal puanlama tablosu

**Adı-Soyadı:**

**Tarih:**

- Size verilen Tulum Peyniri örneklerini Çizelge 3.6' da (TS-11966) verilen sıraya göre (5'er puan üzerinden) yüzey görünümü, renk, doku, lezzet, tüm izlenim yönünden değerlendiriniz.
- Ürün ile ilgili öneriniz varsa aşağıda ayrılan kısımda belirtiniz.

	<b>Örnek Kodları</b>			
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Yüzey Görünümü</b>				
<b>Renk</b>				
<b>Doku</b>				
<b>Lezzet</b>				
<b>Tüm İzlenim</b>				

**Ürün İle İlgili Düşünceleriniz:**